

N° d'ordre.....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Département des Sciences de l'Environnement

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par :

Mme MOUCHEM METAHRI Fatima Zohra

Spécialité : Environnement

Option : Pathologie des écosystèmes terrestres

Intitulée

***Contribution à l'étude des huiles essentielles de
l'armoise blanche de trois localités de l'ouest
algérien (Ras Elma, El Aricha et Mécheria) et leurs
effets antimicrobiens***

Soutenue le 25/06/2015

Devant l'honorable jury composé de :

Présidente de jury : Dr MAHROUG Samira..... (M.C. A, UDL/SBA)

Examinatrices : Dr OUABED Asmahane..... (M.C.A, Univ. Tiaret)

Dr OULBACHIR Karima..... (M.C.A, Univ. Tiaret)

Dr REGAGBA Zineb..... (M.C.A, Univ. Tiaret)

Directeur de thèse : Pr HELLAL Benchaben..... (Professeur, UDL/SBA)

Année universitaire 20 14 – 2015

Remerciements

Au terme de ce travail Je tiens à exprimer mes remerciements en premier lieu et tout particulièrement à mon Professeur Monsieur Hallal Benchaben pour l'accueil qu'il m'a réservé au sein de son laboratoire , et qui a bien voulu diriger ce travail avec beaucoup de compétence et d'efficacité. j'ai eu le privilège de bénéficier de son savoir et de sa grande expérience. Merci pour votre encadrement sans faille tout au long de ces années.

Mes vifs remerciements vont à Mme MAHROUG Samira maître de conférence A à l'université de Sidi Bel'Abbes pour avoir accepté de présider le jury de ce travail.

Je suis très honorée par la présence de Mme OUAËD Asmahane maître de conférence A à l'université de Tiaret, qui a bien voulu examiner ce manuscrit et juger ce travail.

Je remercie Mme OULBACHIR Karima maître de conférence A à l'université de Tiaret, qui a bien voulu examiner ce manuscrit et pour sa présence parmi le jury de ce travail.

Mes vives gratitude vont aussi à Mme REGAGBA Zineb maître de conférence A à l'université de Tiaret, qui a bien voulu examiner ce travail.

Je n'oublierai jamais l'aide précieuse que Monsieur MERAD Yacine m'a offert au sein du Laboratoire de parasitologie et mycologie, qu'il trouve ici tous mes vifs remerciements.

J'exprime ma reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à accomplir ce modeste travail.

Liste des tableaux

Tableau n° 01: Propriétés physiques et organoleptiques des huiles essentielles **(Page 22)**

Tableau n° 02 : quelques composés présentant une certaine toxicité **(Page 27)**

Tableau n° 03 : Présentation des analyses qualitatives de l'huile essentielle de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) **(Page 69)**

Tableau n°04 : résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (HE) de l'armoise blanche de la station d'El Aricha (Algérie occidentale) **(Page 74)**

Tableau n°05 : résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'armoise blanche des trois stations (Ras El Ma, El Aricha et Mecheria) de l'Algérie occidentale. **(Page 75)**

Liste des figures

- Figure n°01** : la plante dans son milieu naturel au début de la saison de fleuraison (**Page 5**)
- Figure n°02** : armoise blanche (*Artemisia herba – alba*) (**Page 7**)
- Figure n° 03** : acyclique : myrcène (**Page 17**)
- Figure n°04** : monocyclique : thymol (**Page 17**)
- Figure n° 05** : le bêta-bisabolène (**Page 17**)
- Figure n° 06** : la vanilline (**Page 18**)
- Figure n° 07**: Séparation par une Chromatographie en phase gazeuse à deux dimensions CPG-CPG (**Page 38**)
- Figure n° 08** : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (**Page 45**)
- Figure n°09** : Répartition de la fréquence d'utilisation de l'armoise blanche par classes d'âge dans la ville de Sidi Bel Abbès. (**Page 63**)
- Figure n° 10** : Répartition de la fréquence d'utilisation de l'armoise blanche par sexe dans la ville de Sidi Bel Abbès. (**Page 64**)
- Figure n°11** : Répartition de la fréquence d'utilisation de l'armoise blanche selon le niveau d'étude dans la ville de Sidi Bel Abbès. (**Page 65**)
- Figure n°12**: Répartition des différentes utilisations de l'armoise blanche dans la ville de Sidi Bel Abbès. (**Page 65**)
- Figure n°13** : Répartition des différentes parties utilisées de l'armoise blanche dans la ville de Sidi Bel Abbès. (**Page 66**)
- Figure n°14** : Répartition des différents modes de préparation de l'armoise blanche dans la ville de Sidi Bel Abbès. (**Page 67**)
- Figure n°15** : rendement en huiles essentielles de l'armoise blanche des trois stations(**Page 68**)
- Figure n°16** : chromatogramme de l'huile essentielle de l'armoise blanche (**Page 71**)
- Figure n°17** : résultats des aromatogrammes de l'huile essentielles d'*Artemisia herba-alba* (**Page 76**)

Liste des annexes

Annexe n° 01 : Carte de localisation de la steppe sud-oranaise (**Page 113**)

Annexe n°02 : Carte de localisation de la zone l'étude ethnobotanique (**Page 114**)

Annexe n°03 : fiche de questionnaire de l'étude ethnobotanique de l'armoïse blanche (**Page 115**)

Annexe n° 04 : carte de localisation des sites d'échantillonnage de l'armoïse blanche (**Page 116**)

Annexe n° 05 : caractères physico-chimiques des huiles essentielles (**Page 117**)

Liste des abréviations

AB : armoise blanche

AFNOR : Association Française de Normalisation

CACQE : Centre Algérien de Contrôle de Qualité et Emballage

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

COV : Composés Organiques Volatils

CPG : la chromatographie en phase gazeuse

CPG/O : Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie

CPG/SM : couplage avec un spectromètre de masse

DHS : espace de tête dynamique (DynamicHeadspace)

FAO : Food and Agriculture Organisation

GC×GC : chromatographie bidimensionnelle

HE : huile essentielle

HSSE : extraction par adsorption en espace de tête (HeadspaceSorptive Extraction)

RMN : Analyse par Résonance Magnétique Nucléaire

SPDE : extraction dynamique en phase solide (Solid Phase Dynamic Extraction)

SPME : Microextraction en phase solide

TDS : taux de substances en suspension

Résumé

Dans le but de valoriser l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso) on a réalisé une étude ethnobotanique dans le cercle de la ville de Sidi Bel Abbès. Elle a été faite dans le but de réunir toutes les informations concernant les usages thérapeutiques pratiqués par la population locale et cela à l'aide de fiches questionnaires. Les résultats obtenus ont montré que le feuillage de l'armoise blanche constitue la partie la plus utilisée et la majorité des remèdes sont préparées sous forme d'infusion. Sur le plan des maladies traitées, celles du système respiratoire occupent la première place.

Une étude comparative des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, de trois localités à savoir Ras El Ma, El Aricha et Mecheria, s'est effectuée par la comparaison des caractères physico-chimiques de ces huiles essentielles.

Des activités antimicrobiennes variables se sont révélées positives sur six souches microbiennes dont quatre bactéries et deux champignons.

Mots clés : activités antimicrobiennes, armoise blanche, étude ethnobotanique, huiles essentielles, steppe.

Summary

In order to develop the sagebrush (*Artemisia herba-alba* Asso) an ethnobotanical study was conducted in the circle of the town of Sidi Bel Abbès. It was made in order to gather all the information about the therapeutic uses practiced by the local population in the study area using question cards. The results showed that sagebrush foliage is the most used part and the majority of remedies are prepared as an infusion. In terms of the treated disease of the respiratory system rank first.

A comparative study of the essential oils of *Artemisia herba - alba* of three localities Ras El Ma, Aricha and Mecheria was done by comparing the physicochemical characteristics of these essential oils.

Variable antimicrobial activities were found in six microbial strains including four bacteria and two fungi.

Keywords: antimicrobial activities, sagebrush, ethnobotanical study, essential oils, steppe.

ملخص

من أجل تطوير الشاي الأبيض (*Artemisia herba-alba* Asso) تم إجراء دراسة في مدينة سيدي بلعباس من أجل جمع كل المعلومات حول الاستخدامات العلاجية التي يمارسها السكان المحليين في منطقة الدراسة باستخدام بطاقات السؤال. وأظهرت النتائج أن أوراق الشاي هي الجزء الأكثر استخداما و تحتل أمراض الجهاز التنفسي المرتبة الأولى .

تمت دراسة الزيوت الأساسية للشاي لثلاثة مناطق : رأس الماء، العريشة و مشرية عن طريق مقارنة الخواص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية .

تمت دراسة فاعلية الزيوت الأساسية للشاي على أربعة بكتيريا واثنين من الفطريات.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للبكتيريا، الشاي الأبيض، الزيوت الأساسية، السهوب.

Table des matières

Résumés

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

Liste des abréviations

Introduction 1

Etude bibliographique

Chapitre I : Monographie de l'armoise blanche

I.1 Introduction	4
I.2 L'espèce <i>Artemisia herba-alba</i> Asso.	4
I.3 Systématique	5
I.4 Description botanique	6
I.4.1 Partie souterraine	7
I.4.2 Partie aérienne	7
I.5 Habitat	8
I.6 Biologie	8
I.7 Ecologie	9
I.9 Propriétés biologiques et pharmacologiques	10
I.10 Composition chimique	10
I.10.1 Terpènes de l'armoise blanche	11
I.10.2 Flavonoïdes de l'armoise blanche	12
I.11 Etudes chimiques antérieures	12

Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles de l'armoise blanche

II.1 Définition des huiles essentielles	14
II.2 Répartition botanique	15
II.3 Composition chimique des huiles essentielles	16
II.3.1 Les monoterpènes	16
II.3.2 Les sesquiterpènes	17
II.3.3 Les composés aromatiques	17
II.4 Les facteurs de variabilité des huiles essentielles	18
II.4.1 Facteurs biotiques	18

II.4.2 Facteurs abiotiques	20
II.4.3 Facteurs technologiques	20
II.5 Propriétés physiques et organoleptiques des huiles essentielles	21
II.6 Rôle des huiles essentielles	22
II.7 Domaines d'utilisation des huiles essentielles	23
II.7.1 Applications thérapeutiques	24
II.7.2 Conservation des denrées alimentaires	25
II.7.3 Désinfection des locaux	26
II.7.4 Cosmétique et parfumerie	26
II.8 Toxicité des huiles essentielles	27
II.9 La normalisation des huiles essentielles	28
II.10 Intérêt thérapeutique, écologique et économique des huiles essentielles	29
II.11 Procédés d'extraction des huiles essentielles	30
II.11.1 Hydrodistillation	30
II.11.2 Techniques d'extraction des composés organiques volatils (COV)	32
II.11.3 Espace de tête statique (atmosphère confinée)	33
II.11.4 Espace de tête dynamique	33
II.11.5 Espace de tête pseudo-dynamique	34
II.12 Phénomènes physico-chimiques et facteurs produisant l'altération des huiles essentielles	35
II.13 Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles	36
II.13.1 Chromatographie en phase gazeuse monodimensionnelle	36
II.13.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG/O)	37
II.13.3 Chromatographie en phase gazeuse à deux dimensions	37
II.13.4 Chromatographie à deux dimensions heart-cutting CPG/SM	38
II.13.5 Chromatographie totale CPG-2D	39
Chapitre III : Bioactivité des huiles essentielles	
III.1 Généralités	40
III.2 Huiles essentielles comme agents antimicrobiens	41
III.3 Facteurs liés à l'huile essentielle	42
III.4 Facteurs liés aux micro-organismes	43
III.4.1 L'espèce microbienne	43
III.4.2 L'âge de la culture microbienne	44

III.4.3 L'effectif de la population	44
III.5 Mécanisme d'action antimicrobienne des huiles essentielles	44
III.6 Activité insecticide des huiles essentielles	47
III.7 Aperçu sur les techniques d'étude du pouvoir antimicrobien des HE.	49
III.7.1 Techniques en milieu liquide	49
III.7.1 .1 Méthode des disques de Sarbach	49
III.7.1.2 Méthode de Marzuella	49
III.7.2 Techniques en milieu solide	49
III.7.2.1 Méthode de Vincent	49
III.7.2.2 Méthode de Morel et Rochaix	50
III.8 Détermination des CMI et CMB par dispersion des HE dans le milieu de culture.	50
Etude expérimentale	
Matériel et méthodes	
Chapitre I : Présentation des sites d'étude	
I.1 Situation géographique	52
I.2 Climat	52
1.3 Sol	52
I.3.1 Sols calcimagnésiques	53
I.3.2 Sols minéraux bruts	53
I.3.3 Sols peu évolués	53
I.3.4 Sols halomorphes	53
I.4 Végétations steppiques	54
Chapitre II : Etude ethnobotanique de l'armoise blanche	
II.1 Description de la zone d'étude	55
II.2 Méthode d'étude	55
Chapitre III : Etude des huiles essentielles de l'armoise blanche	
III.1 Obtention de l'huile essentielle de l'armoise blanche	57
III.1.1 Echantillonnage	57
III.1.2 Procédés d'extraction et de conservation des huiles essentielles	57
III.1.3 Analyse des huiles essentielles de l'armoise blanche	58
III.1.3.1 Analyse quantitative	58
III.1.3.2 Analyses qualitatives	58

Chapitre IV : Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de l'armoise blanche

IV.1 Microorganismes utilisés	60
IV.2 Préparation des cultures	60
IV.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice	61
Résultats et discussions	
Chapitre I : résultats de l'enquête ethnobotanique	
I.1 Fréquence d'utilisation des plantes médicinales selon le profil des enquêtés	62
I.1.1 Classes d'âge	62
I.1.2 Sexe d'appartenance	63
I.1.3 Niveau intellectuel	64
I.1.4 Domaines d'indication thérapeutique	65
I.1.5 Parties utilisées	66
I.1.6 Mode de préparation	67
Chapitre II : analyses des huiles essentielles de l'armoise blanche	
II.1 Caractérisation de l'huile essentielle de l'armoise blanche	68
II.1.1 Rendement en huiles essentielles	68
II.1.2 Analyses qualitatives de l'huile essentielle de l'armoise blanche	69
II.1.3 Données chromatographiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche	70
Chapitre III : Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de l'armoise blanche	
III.1 Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'armoise blanche	74
Conclusion générale	79
Références bibliographiques	81
Annexes	113

Les plantes représentent une source immense de molécules chimiques complexes exploitées par l'homme dans l'industrie des parfums, agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. La plupart des végétaux renferment des huiles essentielles ; ils sont alors appelés « plantes aromatiques ». Ces huiles essentielles se trouvent dans de nombreuses parties de la plante : le bois, les feuilles, les fruits, les écorces, les graines et les racines. Ce sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines, voire de plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes et de composés aromatiques.

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps puisque l'homme préhistorique pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorants des plantes. Il plongeait, dans un même récipient rempli d'eau, des plantes odorantes et des pierres brûlantes. La vapeur dégagée entraînait les molécules volatiles, puis le tout était recueilli à l'aide d'une peau d'animal dont l'essorage donnait quelques gouttes d'huile essentielle **(Robert, 2000)**.

Au fil des siècles, l'extraction et l'usage des principes odorants des plantes sont développés, notamment par les civilisations arabe et égyptienne, qui leurs attribuent avant tout un usage religieux **(Sell, 2006)**. Puis progressivement, ces huiles essentielles se font connaître pour leurs vertus thérapeutiques et deviennent alors des remèdes courants des médecines traditionnelles. En guise d'exemple, à l'époque des grandes épidémies dans la Grèce Antique, les principes odorants de certaines plantes aromatiques étaient répandus par fumigation dans les rues des villes pour combattre la propagation des maladies infectieuses. La fumigation des personnes malades est en effet l'une des plus anciennes techniques thérapeutiques **(Buchbauer et al., 1993)**. Plus tard en France, il a été remarqué que les ouvriers parfumeurs et tanneurs, qui étaient en contact quotidiennement avec des huiles essentielles, résistaient de manière quasi-absolue aux épidémies de toutes sortes **(Vanier, 1994)**.

De nos jours, la médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des huiles essentielles et de leurs constituants. En effet, de nombreux composés volatils sont aujourd'hui des ingrédients courants des préparations pharmaceutiques. Le thymol, par exemple, est employé en soins dentaires pour ses propriétés antiseptiques ou encore l'eugénol pour ses propriétés analgésiques **(Pauli, 2001)**. Pour tenter de trouver de nouveaux remèdes aux fléaux actuels, la communauté scientifique s'est récemment tournée vers les constituants des huiles essentielles, car un nombre non négligeable de composés volatils, tels que les sesquiterpènes,

ont montré des activités pharmacologiques remarquables contre les maladies comme le cancer (**Modzelewska et al., 2005**).

Les Huiles Essentielles ont un très large spectre d'inhibition comprenant des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (**Remmal et al., 1993**), des champignons (**Pattnaik et al., 1997 ; Maudsley et Kerr, 1999 ; Valnet et al., 1978**), aussi bien que des virus à ADN et à ARN (**Siddiqui et al., 1996**). Le mode d'action de ces huiles essentielles n'est que partiellement étudié : plusieurs molécules phénoliques tel que le xylénol, le crésol et le carvacrol exercent une activité bactéricide en provoquant des altérations des membranes bactériennes et la perte des métabolites intracellulaires (**Gale et al., 1981; Ultée et al., 1999**).

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées depuis longtemps dans la lutte contre les maladies infectieuses. Mais la découverte des antibiotiques a provoqué le déclin de la médecine à base de plantes et l'a reléguée à un rang secondaire (**Salton et Tomasz, 1974**).

Sans aucun doute, les antibiotiques représentent actuellement l'un des groupes de médicaments les plus employés en médecine. Leur utilisation clinique, dès la fin de la première moitié du 20ème siècle, a radicalement modifié le pronostic des maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cependant, la recherche de nouvelles molécules s'avère nécessaire car, dès le début de l'ère de l'antibiothérapie, ces substances ont montré un certain nombre d'inconvénients et de limites d'utilisation résumés comme suit :

- * effets secondaires et toxicité des molécules antimicrobiennes pour l'organisme traité.
- * tolérance et résistance croissante des germes infectieux aux antibiotiques.
- * difficultés rencontrées dans le traitement des maladies exigeant la destruction des germes pathogènes indépendamment des facultés de défense du malade (patients immunodéprimés) (**Siegenthaler et Luthy, 1978**).

Les huiles essentielles constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives.

L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique subsaharienne. La flore algérienne est potentiellement riche, beaucoup d'espèces endémiques peuvent y être. Nous partageons avec les méditerranéens et les pays du Sahel un large éventail de composés et d'éléments phytochimiques d'un intérêt grandissant d'où la nécessité et l'importance de ce travail de recherche. Ce brassage d'espèces constitue pour notre pays une véritable richesse qui doit être préservée et gérée rationnellement et durablement dans le but de maintenir les équilibres écologiques déjà fragiles et de conserver notre diversité biologique (**Pereira et al ., 2003**).

Le présent travail est une contribution dans la valorisation des principes actifs (cas des huiles essentielles) contenus dans la flore algérienne peu connue jusqu'à présent, et qui sera présenté comme suit :

Une première partie qui est un rappel bibliographique sur les huiles essentielles et leurs activités microbiologiques ainsi que la monographie de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*).

Une deuxième partie traite l'étude expérimentale qui comporte aussi deux volets :

Le premier est consacré au Matériel et méthodes utilisées et le deuxième à l'ensemble des résultats obtenus suite aux investigations phytochimiques de *l'Artemisia herba-alba*.

Enfin, une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus.

I.1 Introduction

Des plantes du genre *Artemisia* (Asteraceae) ont été employées dans la médecine traditionnelle par beaucoup de cultures depuis les périodes antiques. Des thés de fines herbes de ces espèces ont été employées comme agents analgésiques, antibactériens, anti-plasmodique, et hémostatiques, anthelminthique, anti-diarrhéique et diurétique (**Ahmed et al., 1990 ; Benjumea et al., 2005**) alors que plusieurs extraits et huiles essentiels montraient un certain nombre d'activités biologiques telles que antihyperglycemique(**Darias et al., 1986**), antimicrobien (**Dhingra et al., 2000**) , antioxydant (**El-Massry et al., 2002 ; Heywood et al., 1977**)et anti-inflammatoire (**Kim et al ., 2002 ; Kim et al., 2003**).

En outre, quelques espèces du genre sont fréquemment utilisées pour le traitement de certaines maladies telles que la malaria, l'hépatite, le cancer et les infections par des champignons, des bactéries, et des virus (**Kordali et al., 2005 ; Ribnicky et al., 2005**). Historiquement, l'armoise a été un genre productif dans la recherche de nouveaux composés biologiquement actifs. Les investigations phytochimiques ont montré que ce genre est riche en sesquiterpènes, monoterpènes, flavonoïdes et coumarines (**Setzer et al., 2004 ; Tan et al., 1998**).

I.2 L'espèce *Artemisia herba-alba* Asso.

Connue depuis des millénaires, l'*Artemisia herba-alba* (armoise herbe blanche) a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV^e siècle av. J.-C., dans les steppes de la Mésopotamie(**Francis, 2001**).

Elle a été répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Jordán Claudio de Assoydel Rio (**IPNI, 1979**). C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail comme pâturage d'hiver. Elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent (**Nabli, 1989**). Plusieurs noms sont attribués à l'*Artemisia herba-alba* comme le thym des steppes et absinthe du désert.

L'*Artemisia herba-alba* est bien connue depuis l'Antiquité. Elle est citée dans la Bible à plusieurs reprises avec le nom hébreu *la'anah*. Le nom anglais Wormwood (attribué à toutes les armoises) fait allusion à son pouvoir vermifuge bénéfique pour l'homme et le bétail.



Figure n°01 : la plante dans son milieu naturel au début de la saison de floraison (**Cliché MOUCHEM, 2013**)

I.3 Systématique

Le genre *Artemisia* comporte plus de 200 espèces. L'*Artemisia herba-alba* fait partie de la famille des composées provenant de l'embranchement de phanérogames.

C'est une famille qui compte plus de 1000 genres et 1500 espèces.

(Deysson ,1967).

Selon **Quezel et Santa** (1963), l'armoise blanche est classée comme suit :

Embranchement	:	Phanérogames
Sous embranchement	:	Angiospermes
Classe	:	Dicotylédones
Sous classe	:	Gamopétales
Ordre	:	Astérales
Familles	:	Composées
Sous famille	:	Tubilifoidées
Tribu	:	Antimidées
Genre	:	<i>Artemisia</i>
Espèce	:	<i>Artemisia herba-alba</i> Asso.

I.4 Description botanique

L'*Artemisia herba-alba* est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiées, de 30 à 50 cm, très feuillées avec une souche épaisse. Les feuilles sont petites, sessiles, pubescentes et à aspect argenté. Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites (3/1,5mm) et ovoïdes. L'involucre est à bractées imbriquées, les externes orbiculaires et pubescentes. Le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (**Pottier, 1981**).



Figure n°02 : armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso.)(Cliché MOUCHEM, 2013)

I.4.1 Partie souterraine

L'armoise blanche présente une racine principale, épaisse et ligneuse, bien distincte des racines secondaires, qui s'enfoncent dans le sol comme un pivot. Le système racinaire a une extension peu profonde avec un grand nombre de ramifications latérales particulièrement abondantes entre 2 et 5 cm de profondeur met en relation cette forme de racine avec l'existence d'une croûte calcaire superficielle. Quant l'armoise se développe dans une région plus humide, ses racines pénètrent profondément jusqu'à 40 à 50 cm et ne se ramifient qu'à cette profondeur (**Pourrat, 1974**).

La biomasse racinaire diminue très vite avec la profondeur et très peu de racines sont retrouvées à partir de 50 cm (**Aidoud, 1983**).

I.4.2 Partie aérienne

Elle est présentée par la partie ligneuse, la tige, les feuilles et les fleurs.

*** La tige**

L'armoise présente une tige principale très épaisse, rougeâtre, très ramifiée qui se prolonge par de nombreuses tiges de plus en plus fines ; chaque tige se distingue par une taille allant de 30 à 50 cm (**Bendahou M, 1991**).

*** Les feuilles et les rameaux**

Les feuilles sont courtes, blanches, laineuses, argentées et pinnatipartites, elles sont très petites et entières, ce qui réduit considérablement la surface transpirante et permet ainsi à la plante de résister à la sécheresse (**Pourrat, 1974**).

*** La fleur**

La floraison s'effectue en automne à partir du mois de septembre. La fleur est formée d'inflorescences en capitules. Ces derniers sont très petits, étroits (1 à 1.5 mm) ovoïdes à involucres scarieux ne contenant que 3 à 8 fleurs, toutes hermaphrodites. Ces capitules pauciflores, en général homogames sont insérés directement sur l'axe et sans aucun support (**Ozenda, 1985**).

I.5 Habitat

L'*Artemisia herba-alba* est largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-Est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares, l'*Artemisia herba-alba* est absente des zones littorales nord. Cependant, l'espèce se raréfie dans l'extrême sud (**Nabli, 1989**).

I.6 Biologie

L'*Artemisia herba-alba* est une plante ligneuse basse et toujours verte. Ses caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides. Le dimorphisme saisonnier de son feuillage lui permet de réduire la surface transpirante et d'éviter ainsi les pertes d'eau (**Ourcival, 1992**).

Grâce à son système racinaire très dense à la surface, l'*Artemisia herba-alba* est capable de valoriser toute humidité superficielle occasionnée par des petites pluies (**Lefloc'he, 1989**). Cette espèce est également capable d'exploiter l'humidité du sol jusqu'à 50 cm de profondeur (**Floret et Pontannier, 1982**) et peut profiter des fractures de la croûte, pour atteindre les poches d'humidité, notamment dans les sols à encroûtement calcaire (**Ourcival, 1992**). **Evenari et coll. (1980)**, ont rapporté que chez les plantes âgées d'*Artemisia herba-alba*, la tige principale se divise en « branches » physiologiquement indépendantes les unes des autres et susceptibles de mourir sans entraîner la mort de la plante entière (**Evenari et al., 1980**). La floraison de cette espèce débute le plus souvent en juin mais les fleurs se développent essentiellement à la fin de l'été. Lors des années pluvieuses et dans les sols qui lui conviennent, l'*Artemisia herba-alba* présente une forte production de graines et un pouvoir de régénération élevé (**Nabli, 1989**).

I.7 Ecologie

L'*Artemisia herba-alba* existe dans des bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien (entre les isohyètes de 150 à 500 mm). Elle semble indifférente aux altitudes et peut vivre dans des régions d'hiver chaud à frais. Par ailleurs, cette espèce est abondante dans le centre sur des sols, à texture fine, assez bien drainées (marnes, marno-calcaires en pente). Dans le sud, elle pousse sur des sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur des sols sableux. L'armoise résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés. Dans un biome steppique type, les groupements d'*Artemisia herba-alba* sont marqués par deux strates : une strate de ligneux bas (environ 40cm du sol) et une autre constituée d'herbacées annuelles (hauteur moyenne de 20cm) (**Nabli, 1989**).

I.8 Propriétés biologiques et pharmacologiques

L'armoise blanche est très recherchée pour ses propriétés pharmacologiques. Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les troubles gastriques et hépatiques, en plus des maux les plus divers et contre certaines formes d'empoisonnement. La grande popularité dont elle jouit, repose vraisemblablement sur les pouvoirs antitumorales, antispasmodiques et antiseptiques (**Segal et al., 1973 ; Gomis et al., 1979 ; Yashphe et al., 1979 ; Gordon et al., 1981**).

Les feuilles de cette espèce sont utilisées pour soigner le diabète, bronchite, abcès, diarrhée et comme vermifuge. Elle possède des vertus purgatives évidentes jouant un grand rôle dans le contrôle des vers intestinaux, en particulier des ovins, mais pouvant également entraîner la mort de jeunes agneaux (**Le Floch, 1983**).

Elle présente un excellent moyen naturel de lutte contre l'érosion et la désertification, un double intérêt économique comme pâturage permanent des zones désertiques et comme plante exploitée industriellement. (**Benjilali et al., 1984**).

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle a fait l'objet de plusieurs études. **Yasphe et al., (1979)** testent l'activité de l'huile essentielle contre plusieurs bactéries qui se sont révélées sensibles à la concentration de 1-2 mg/ml. **Charchari et al.,** en 1996, ont montré que l'huile est plus active sur *Staphylococcus*, *Candida* et *Microsporium* que les entérobactéries.

En étudiant l'effet antispasmodique de l'huile essentielle, **Yasphe et coll., (1979)** trouvent que l'huile est 100 à 1000 fois importante que l'effet bactéricide.

I.9 Composition chimique

Au Maghreb, l'*Artemisia herba-alba* constitue un fourrage particulièrement intéressant. En effet, la plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé malgré que son aspect extérieur indique l'inverse (17 à 33%). La matière sèche (MS) apporte

entre 6 et 11% de matière protéique brute dont 72% est constituée d'acides aminés. Le taux de β -carotène varie entre 1,3 et 7mg/kg selon les saisons (**Fenardji et al., 1974**).

La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche, très faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS). En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0,8 UF/kg MS) (**Aidoud, 1989**).

Les plantes de la famille des Astéracées, auquel appartient l'*Artemisia herba-alba*, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs huiles essentielles. Les molécules identifiées sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures acétyléniques (**Da Silva, 2004**).

I.9.1 Terpènes de l'*Artemisia herba-alba*

Les terpènes sont des polymères constitués d'unités en C5. Les monoterpènes (en C10) sont des substances légèrement volatiles qui forment les huiles essentielles. Ils protègent les végétaux contre les parasites, inhibent la croissance bactérienne et attirent les animaux pollinisateurs (**Lüttge et al., 1992**).

Les principaux monoterpènes identifiés dans l'*Artemisia herba – alba* sont le thujone (monoterpènelactone), le 1,8-cinéol et le thymol (**Duke, 1992**).

Des monoterpènes alcooliques (yomogi alcool, santolinealcool) ont été mis en évidence (**Segal, 1980**). On a aussi identifié des sesquiterpènes (3 unités en C5) et des sesquiterpènes lactones dans plusieurs chémotypes du Moyen-Orient (**Segal, 1985**).

Le thujone est probablement l'un des constituants terpéniques les plus bioactifs de l'Armoise. Son nom provient de Thuya (*Thujaoccidentalis*) plante de laquelle il a été extrait pour la première fois. On l'a identifié également dans d'autres espèces, comme l'Absinthe (*Artemisia absinthium*) et l'Armoise romaine (*Artemisia pontica*).

Structurellement lié au menthol, il est constitué d'un cycle en C6(cyclohexane) avec en plus un groupement exocyclique isopropyl et un groupement lactone. Lethujone est un composé chiral présent à l'état naturel sous forme de deux stéréoisomères : l'alpha-thujone et le bêta-thujone (**Patocka et Plucar, 2003**).

I.9.2 Flavonoïdes de l'*Artemisia herba-alba*

Ce sont des composés phénoliques qui contribuent à la pigmentation de la plante. Très ubiquitaires, certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines, métabolites synthétisés par la plante pour lutter contre diverses parasitoses. Les flavonoïdes sont rencontrés à l'état libre (soluble) ou liés à un sucre (glycosides) dans le liquide vacuolaire. La coloration des dérivés dépend des différentes substitutions de l'atome d'hydrogène sur divers cycles, de la formation de complexes avec les ions métalliques (Fe³⁺, Al³⁺) et du pH (**Lüttge et al., 1992**). Les principaux flavonoïdes isolés à partir de l'*Artemisia herba – alba* sont l'hispiduline, la

cirsimaritrine(**Shen et al., 1994**). Des flavones glycosides comme la 3-rutinoside quercétine et l'isovitexine ont été mis en évidence chez des chémotypes du Sinaï (**Saleh et al., 1985**).

I.10 Etudes chimiques antérieures

L'huile essentielle d'armoise blanche est très recherchée par les industries de cosmétologie et de parfums et est caractérisée par plus de 12 chémotypes (**Benmansour, 1999**) dont le plus recherché (de point de vue commerciale) est celui à alpha- thuyone 31±3% camphre 38±3% (**Santorini, 1983**).

Cette plante est toujours d'actualité par les études qui montrent bien combien l'huile est très complexe. **Dahmani-Hamzaoui et Baaliouamer, (2005)** ont identifié 42 nouveaux constituants de l'huile d'armoise blanche récoltée à Djelfa (Algérie) ; **Salido et**

al., (2004) ont mis en évidence pour la première fois ,17 nouveaux constituants d'huile essentielle d'origine espagnole . **Benmansour ,(1999)** , suggère d'utiliser le terme de produits majoritaires que celui de chémotype(pour cette plante) à cause de la diversité chimique de l'huile . Les principaux constituants de l'huile sont : le camphène, le 1,8-cinéol, la chrysanthénone, l' α et le β -thujone, le camphre, l'acétate de cis chrysanthényl et la davanone(**Benjilali et coll., 1982 ; Dahmani-Hamzaoui et Baaliouamer, 2005**).

D'autres composés caractérisent cette espèce tel les flavonoides .Récemment **Tae-Hoon et coll., (2004)** ont identifié de l'acide chlorogénique , acide 4,5 -O-dicaffeoylquinique , isofraxidine 7-O- β -D-glucopyranoside, acide 4-O- β -D glucopyranosylcaféique , rutine, schaftoside, isoschaftoside, et 2-vicenin . Une synthèse exhaustive de la composition chimique et des usages d'*Artemisia herba-alba* est rapportée par **Benjilali (1986)**.

La composition chimique des plantes aromatiques est complexe et est constituée de deux fractions. La première fraction dite volatile (COV) est présente dans différents organes de la plante selon la famille ; cette fraction est composée de métabolites secondaires qui constituent l'huile essentielle.

Les plantes aromatiques ont la particularité de renfermer au sein de leurs organes sécréteurs, des cellules génératrices de métabolites secondaires où il apparaît clairement comment les molécules très volatiles sont synthétisées à partir d'unités méthyl-2-buta-1,3-diène (isoprène) et où les réactions d'addition de ces unités conduisent aux terpènes, sesquiterpènes, diterpènes et leurs produits d'oxydation tels que les alcools, aldéhydes, cétones, éthers et esters terpéniques. L'ensemble de ces produits sont accumulés dans des cellules sécrétrices offrant à la plante une odeur caractéristique (**Heinrich et al., 1983**).

La deuxième fraction dite non volatile de la plante, composés organiques non volatils(CONV), est composée essentiellement de coumarines, flavonoïdes (**Cisowski, 1985**), composés acétyléniques ainsi de lactones sesquiterpéniques phénols ou polyphénols jouant un rôle fondamental dans l'activité biologique de la plante (**Kubeczka et al., 1982**).

II.1 Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances odorantes concentrées, obtenues à partir de plantes par entraînement à la vapeur d'eau, hydrodistillation ou expression (pression à froid). Le terme "huile essentielle" a été inventé au 16^{ième} siècle par le médecin suisse Paracelse von Hohenheim afin de désigner le composé actif d'un remède naturel. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums (**Essawi et al., 2000**).

La norme AFNOR NF T 75-006 définit l'huile essentielle comme: « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques. La majorité des huiles essentielles sont des liquides très peu colorés, volatils à température ambiante.

Les huiles essentielles dégagent une odeur caractéristique et sont, en général plus légères que l'eau tout en possédant des caractéristiques hydrophobes.

Ce sont des molécules légères qui sont entraînées par la vapeur d'eau lors de la distillation, l'huile se sépare de l'eau du distillat mais une petite partie persiste dans l'eau et lui communique une odeur, on parle alors d'eau aromatique, à rapprocher de l'hydrolat, eau distillée aromatisée (parfois artificiellement) à laquelle on ajoute parfois de l'alcool, des stabilisants chimiques ou des conservateurs. L'utilisation par les humains des plantes aromatiques et donc des huiles essentielles est très ancienne et assez universelle ; on s'en sert traditionnellement pour conjurer le mauvais sort, se soigner, se détendre, aromatiser la nourriture, conserver les aliments.

Les huiles essentielles contenues dans les herbes aromatiques sont responsables des différentes senteurs que dégagent les plantes. Elles sont très utilisées dans l'industrie des cosmétiques, de la parfumerie et aussi de l'aromathérapie. Cette dernière se veut une technique thérapeutique par le massage, les inhalations ou les bains en utilisant les huiles essentielles des plantes. Les huiles essentielles vont servir de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement (rôle écologique): attraction des insectes pollinisateurs, action répulsive sur les prédateurs, inhibition de la germination des graines, voire communication entre les végétaux (émission de signaux chimiques signalant la présence d'animaux herbivores par exemple). Ces huiles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, poils sécréteurs (comme dans la menthe), canaux sécréteurs) et ont vraisemblablement un rôle défensif : protection du bois contre les insectes et les champignons, action répulsive contre les animaux herbivores (**Heinrich et al., 1983**). La concentration dans les plantes est en général faible, aux alentours de 0,1 à 2%, mais il y a des exceptions comme le clou de girofle avec 15% d'huile essentielle ou la noix de muscade, 5-15%. Parmi les familles végétales les plus productrices d'huiles essentielles, on distingue les Lamiacées (famille du Thym, de la lavande, de la menthe, du basilic etc.), les Astéracées (camomille, absinthe...), les Myrtacées (Cannelle, Laurier...), les Apiacées (coriandre...).

II.2 Répartition botanique

Les huiles essentielles sont largement réparties dans le règne végétal. Certaines familles en sont particulièrement riches : Conifères, Myrtacées, Ombellifères, Labiées, Composées (**Sauvage, 1974 ; Boulos, 1983**). Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : sommités fleuries, écorce, racines, rhizomes, fruit, bois,...etc. Dans une même plante, elles peuvent être présentes dans différents organes. La composition des huiles essentielles peut alors varier d'un organe à l'autre (**Paris et Hurabielle, 1981**).

II.3 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont une composition assez complexe (**Azevedo et al., 2001**) . On y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Les composés terpéniques sont formés d'unités isopréniques (en C5) et comprennent les monoterpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20) et les triterpènes (C30). Ils ont la même origine métabolique. Ces terpènes peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. En général, une huile essentielle est un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Parmi ces composés oxygénés, on peut noter la présence d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, de cétones, d'éther-oxydes et de carbures.

A l'intérieur d'une même espèce végétale, on observe des variations chimiques (qualitatives et quantitatives) importantes ayant conduit à admettre l'existence de races chimiques (exemple : *Thymus* à thymol, à géraniol, à carvacrol, à linalol) (**Azevedo et al., 1999**), et parmi les nombreux constituants d'une huile essentielle, l'un domine généralement ; On l'appelle composé majoritaire. La composition chimique des huiles essentielles varie encore de façon appréciable avec le milieu et la période de la végétation. Elle peut aussi être modifiée au cours de l'extraction ou durant la conservation (**Azevedo et al., 1997 ; Mundina et al., 2001 ; Demetzos et al., 1999**).

II.3.1 Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%) (**Paduaetal ., 1999**)

Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales.

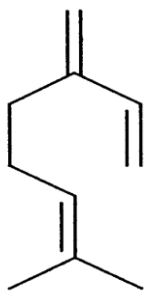


Figure n° 03 : acyclique : myrcène

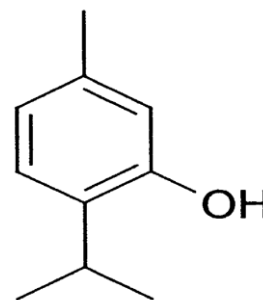


Figure n°04 : monocyclique : thymol

II.3.2 Les sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurelles, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (**Bruneton, 1987**).

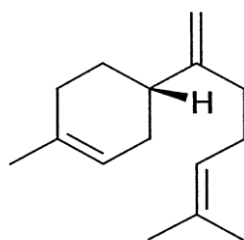


Figure n° 05 : le bêta-bisabolène

II.3.3 Les composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Kurkin, 2003**). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol,

l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, de l'estragon, etc (**Bruneton, 1993**).

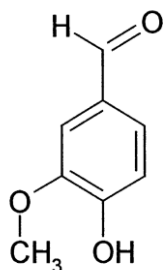


Figure n° 06 : la vanilline

II.4 Les facteurs de variabilité des huiles essentielles

Produire une huile essentielle de bonne qualité commence d'abord par la sélection de la meilleure espèce voire le meilleur chémotype. Car, si une espèce végétale présente les caractéristiques botaniques, le rendement en huile essentielle et la composition chimique de cette dernière, dépend non seulement de l'origine botanique, mais essentiellement du chémotype considéré.

En dehors de l'origine botanique et du chémotype, le cycle végétatif, les facteurs environnementaux, les pratiques culturelles et les techniques d'extraction employées jouent un rôle déterminant quant à la composition d'huiles essentielles.

II.4.1 Facteurs biotiques

La composition d'une huile essentielle varie selon l'espèce productrice. En effet il n'existe pas deux plantes offrant le même parfum (**Padrini et Lucheroni, 1996**). Pour une espèce donnée la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut

varier de façon importante tout au long de son développement (**Bruneton, 1993**). Pour une même espèce végétale, il existe plusieurs races chimiques ou chémotype (**Lawrence, 1980**). Les

chémotypes sont très fréquents chez les plantes à huiles essentielles (**Bruneton, 1993**). Par exemple, le thym existe sous forme de plusieurs espèces dans différents pays de la méditerranée.

En effet le *Thymus vulgaris* de France, le *thymus zygis* (thym rouge d'Espagne) et le *Thymus elongatum* (thym de Targniste) engendrent des huiles essentielles à thymol comme constituants majoritaires (40-60%). Par contre le *thymus satureioides* est un thym à bornéol (20-30%). Les mêmes constatations ont été observées au niveau de l'armoise et du romarin.

Le site producteur peut aussi influencer sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles. Le rendement est plus important dans les fleurs que dans les feuilles. La densité des glandes sécrétrices varie et semble être en corrélation avec le rendement total en huiles essentielles.

La composition en huile essentielle d'une plante donnée varie avec son âge et les différents stades de son développement au fil des saisons. Par exemple on observe des variations très significatives chez la coriandre où la teneur en linalol est 50 % plus élevée dans le fruit mûr que dans le fruit vert avant maturation (**Bruneton, 1997**).

La période de récolte, le séchage ainsi que le stockage du matériel végétal peuvent entraîner de profondes modifications sur l'essence (**Garnero, 1985**). A titre d'exemple, les mousses de chêne, après stockage durant au moins 4 mois, développent différents principes actifs. En effet, elles contiennent des molécules sans odeur contenant deux cycles benzéniques diversement substitués et reliés entre eux par le groupement **coo** appelé despide. Elles se dégradent en produits odorants par hydrolyse ou fermentation bactérienne au cours du temps (**Sen-Saberno et Blakeway, 1987**).

Une étude menée sur le romarin de la Yougoslavie, a montré que le rendement des jeunes feuilles (1.5%) est supérieur à celui obtenu à partir des feuilles adultes (0.5%). Un séchage préalable de la plante se traduit par une augmentation du rendement. Les feuilles séchées du romarin donnent un rendement en huiles essentielles plus élevé que les feuilles fraîches (2.57% contre 1.27%) (**Boelens, 1985**).

Le maximum du rendement en huiles essentielles du romarin est obtenu en période de floraison (**Guenther, 1949**).

Une autre étude réalisée en Algérie a montré que deux espèces de romarin donnent des rendements différents : le *R. officinalis* donne un rendement de 1.4%, par contre le *R. eriocalixou* dit romarin de tournefortii donne un rendement moyen de 1.2% (**Boutedjiret et coll., 1994 ; Bendedouche, 2015**)

II.4.2 Facteurs abiotiques

Il s'agit de l'incidence des facteurs de l'environnement et des pratiques culturales. L'apport d'engrais et l'influence de variation d'azote, de phosphore et de potassium ont été étudiés pour diverses espèces (**Georgiev, 1959**).

La température, l'humidité relative, la durée d'insolation et le régime de vent exerce une influence directe (**Bruneton, 1993**). La chaleur favorise la production de l'essence et l'humidité est indispensable au bon développement (**Chambon, 1984**).

II.4.3 Facteurs technologiques

Le mode d'extraction d'une huile essentielle marque de son empreinte la composition chimique de celle-ci. En effet l'hydrodistillation et la distillation par solvant volatil ne conduisent pas à la même quantité et qualité d'essence. La durée et la vitesse de distillation ainsi que la masse du végétal à traiter ont une grande influence. Lors de l'hydrodistillation d'une plante aromatique, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire des réactions chimiques d'altération (hydrolyse, élimination, cyclisation, réarrangement et autres ...) sur les composés terpéniques thermosensibles de l'essence (**Naves, 1964 ; Morin et al., 1985**).

Un certain nombre de travaux récents ont eu pour but la recherche de la durée minimale d'extraction par hydrodistillation du ou des constituants importants caractéristiques d'une huile essentielle. Une étude de **Koedam** sur l'huile essentielle d'aneth (*Anethumgraveolens*) encore appelée essence de Dill et qui est surtout constituée par du (+) limonène et de la (+) carvone. Cette dernière représentant l'élément le plus

important du point de vue aromatique, montre que, dans la première heure de distillation, l'huile essentielle extraite contient 90% de carvone. Au bout de 6 heures, la portion de limonène s'est considérablement accrue pour atteindre 30%. Est-il donc bien nécessaire de poursuivre des heures durant une hydrodistillation alors que c'est dans la première heure que passe la presque totalité du composé caractéristique intéressant contenu dans le végétal traité.

Granger et al., (1973) ont montré dans le cas du romarin que certains constituants comme le camphre, le bornéol et la verbénone demeuraient en partie dans les eaux d'entraînement. Ainsi, on comprend mieux l'importance de la technique de cohobation qui renvoie dans la chaudière les eaux séparées de l'huile essentielle. Toutefois, pour la verbénone, la cohobation est insuffisante et cette cétone reste presque totalement en solution dans les eaux de distillation. En ce qui concerne la camomille bleu ou matricaire (*Matricariachamomilla*) le chamazulène se formerait au cours de l'hydrodistillation de la plante aux dépens de substances à squelette sesquiterpénique du guaiène appelés « pro-chamazulénogènes » : matricarine et matricine.

Un autre exemple qui montre que l'huile essentielle ne représente qu'une partie, de la fraction volatile de *Rosmarinus officinalis*. En effet, l'huile essentielle ne contient aucun des constituants ditèrpéniques qui existent dans le végétal et qui représente un groupe de composés très important non pas du point de vue de l'odeur mais de celui des propriétés antioxydants.

II.5 Propriétés physiques et organoleptiques des huiles essentielles

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques.

Tableau n° 01: Propriétés physiques et organoleptiques des huiles essentielles

Propriétés physiques et organoleptiques	
Les huiles essentielles sont entraînables à la vapeur d'eau (Bruneton J, 1999). Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels (Valnet J, 2005).	
Odeur	Très odorante. Dépend souvent de l'altération que l'air leur fait subir (Wurtz ch-A, 1874).
Couleur	Incolores ou jaunes pâles (Paris M, Hurabielle M, 1981). Il existe cependant quelques exceptions dont la majorité de ces huiles colorées sont des essences ou des absolues (Bergamote et absinthe : vertes, jasmin : brun rougeâtre, cannelle : rougeâtre) (Davis P, 2006).
Consistance	Généralement fluides mais il en est de solides (Valnet J, 2005).
Solubilité	Solubles dans les solvants organiques usuels. Liposolubles. Très peu solubles dans l'eau (Bruneton J, 1999).
Densité	Inférieure à celle de l'eau (varie de 0.759 à 0.99) (Bruneton J, 1999). Quand le contraire a lieu, cela indique une plus forte proportion d'oxygène dans l'un des constituants (Wurtz ch-A, 1874).
Point d'ébullition	Varie entre 160° et 240°C (Wurtz ch-A, 1874).
Indice e réfraction	Elevé (Bruneton J, 1999).
Indice e polarisation	La plupart dévient la lumière polarisée (Bruneton J, 1999).
Altération	Très altérables, sensibles à l'oxydation. Elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation de produits résineux (Paris M, Hurabielle M, 1981). Par une longue exposition à l'air, elles s'épaississent, deviennent visqueuses et souvent acides (Wurtz ch-A, 1874).
Conservation	Limitée (Paris M, Hurabielle M, 1981).

II.6 Rôle des huiles essentielles

Les essences sont des produits élaborés au cours du processus vital et n'ont aucune influence sur les phénomènes d'assimilation. Elles ont des fonctions multiples, parmi les quels la propriété d'attirer les insectes sur leurs pollens et d'assurer ainsi la fécondation ; elles peuvent protéger la plante contre les animaux consommateurs et les parasites, grâce à leur effet irritant (**Bruneton J, 1993**).

En outre, elles exaltent une variété de goût et d'odeur dans l'atmosphère. C'est pourquoi, beaucoup d'entre elles sont employées comme saveurs et condiments en cuisine.

Il convient de signaler que dans le désert, les essences volatiles saturant l'air autour de la plante et permettent de maintenir une humidité pendant le jour (**Belaiche, 1979**).

II.7 Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Les essences des plantes aromatiques, malgré leur diversité ont en commun un certain nombre de propriétés spécifiques qui leur donnent une place très particulière dans toute la gamme de produits aromatiques naturels.

La plupart des huiles essentielles sont recherchées uniquement pour leur odeur, et sont utilisées en parfumerie et cosmétique, d'autre pour leur "saveur" auquel elles doivent leur emploi dans l'alimentation, d'autres enfin, jouent un rôle important dans les industries pharmaceutiques et thérapeutiques.

Et sans méconnaître les acquisitions physico-chimiques hautement profitables, il serait intéressant de « collaborer avec la nature » pour utiliser les moyens de défenses qu'elles nous offrent, non plus d'une façon empirique mais plus rationnellement. Grâce à leurs propriétés antiseptiques, les huiles essentielles retrouvent de plus en plus leur utilisation à diverses fins.

Les applications pratiques de ces activités antiseptiques ont été proposées dans de nombreux domaines à savoir la thérapeutique, la cosmologie et l'industrie alimentaire.

II.7.1 Applications thérapeutiques

Les applications thérapeutiques des huiles essentielles sont vastes. Elles requièrent de bonnes connaissances de ces substances et du fonctionnement du corps humain (**Pibiri M-C, 2006**).

Les huiles essentielles sont des extraits de plantes extrêmement concentrés et des thérapeutiques puissantes dont il ne faut pas abuser. Une goutte d'huile essentielle représente au moins 28g de plante. Elles contiennent des principes actifs à des concentrations moyennes de 73 à 100 fois supérieures à celles de la plante aromatique dont elles sont extraites, et

parfois même beaucoup plus (**Larivée L., 2002**). Donc, elles doivent être diluées dans une substance adéquate dans toutes les formes d'utilisation, interne ou externe, mais elles ne peuvent être mélangées à l'eau ou à un liquide aqueux à cause de leur consistance huileuse (**Viaud H., 1993**).

Il convient d'être très exigeant sur la qualité des huiles essentielles utilisées en thérapeutique et de demander des garanties (**Viaud H., 1993**).

Pour rendre ce moyen thérapeutique plus fiable, il faudrait être assuré que les essences aient été conservées en petits flacons, toujours bien remplis et bien bouchés (**Valnet J., 2005**), dans des endroits frais car une température élevée peut oxyder intempestivement l'huile essentielle (**Ausloos P., 2002**).

Certaines modifications chimiques interviennent au cours de la distillation, suite aux effets de la chaleur et du contact avec l'air et la vapeur, des modifications qui ne sont toutefois pas nuisibles et n'affectent pas les vertus thérapeutiques de l'essence. Dans un certain sens, elles semblent même légèrement les renforcer (**Davis, 2006**).

En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires (**Pellecuer et al., 1980**) ou au niveau de la microflore vaginale (**Viollon et Chaumont, 1994**) et d'origine fongique contre les dermatophytes (**Chaumont et Leger, 1989**).

Leur utilisation ancienne, par voie générale pour leurs effets diurétiques, carminatifs, anti-inflammatoires et antalgiques est toujours valable. Les expérimentations animales ou tissulaires prouvent leur activité sur le système neurovégétatif et le système endocrinien (**Duraffourd et Lapraz, 1997**).

En plus, les huiles essentielles sont utilisées en cas de problèmes de circulation (douleurs menstruelles, circulation sanguine) et les jambes lourdes, l'amincissement, les problèmes respiratoires, les maux de têtes et insomnie, la fatigue et la déprime. Comme elles sont indiquées, en cas de problèmes digestifs, des aphrodisiaques (basse de vitalité sexuelle) et des problèmes dentaires ; certaines huiles essentielles favorisent la guérison des brûlures et ont une action locale cicatrisante et antalgique (**Abrassart, 2001**).

Craig (1999), a montré les propriétés hypocholestérolémiantes et le rôle protecteur contre le cancer des huiles essentielles.

II.7.2 Conservation des denrées alimentaires

L'effet inhibiteur de certaines essences sur le développement des bactéries alimentaires et sur la flore cryptogamique contaminante (**Pellecuer et coll., 1976**), laisse entrevoir des perspectives d'application dans ce domaine.

En effet, les plantes aromatiques ont été, depuis fort longtemps, utilisées empiriquement dans la conservation des produits à caractère périssable. Elles peuvent très bien suppléer aux produits chimiques plus ou moins acceptés par le consommateur puisqu'on peut les utiliser dans la conservation de certains aliments sans pour autant en dénaturer le goût. Les plantes utilisées à cette fin sont diverses : romarin, armoise, thym. Ce dernier offre un excellent exemple de ces pratiques : dans le milieu rural, l'utilisation du thym dans la conservation du Smen ou encore laurier dans la préservation des figues demeure très répandue (**Benjilali et coll., 1984**).

Dans des travaux récents, **Banquour (1984)** et **Ismaili-Alaoui (1986)** ont montré que l'addition d'huile essentielle de thym dans le Smen exerçait un pouvoir antiseptique marqué sur les micro-organismes responsables de la maturation du produit.

II.7.3 Désinfection des locaux

De nos jours, les huiles essentielles sont très employées dans la désinfection des locaux. Le « paragerm », utilisé dans certains services hospitaliers, pour désinfecter tout particulièrement les champs opératoires n'est autre qu'un mélange d'essences de citron, de lilas et d'autres produits obtenus à partir d'huiles essentielles tel que le thymol, le terpinéol et d'autres. Le paragerm est un effet connu comme étant un bon bactéricide et un bon fongistatique (**Mellea et al., 1979**).

II.7.4 Cosmétique et parfumerie

Dans ce domaine, les huiles essentielles semblent prendre actuellement le dessus sur les produits de synthèse classiques tel que l'hexachlorophène. Le cinéol, par exemple, rentre dans la fabrication des savons de toilettes, des aérosols, des lotions désodorisantes (**Singh et al., 1983**). Les huiles essentielles d'eucalyptus sont très utilisées en parfumerie à cause de leur richesse en géraniol, acétate de géranyl et eudesmol. Dans ce cas, l'absence de cinéol et de phellandrène est très appréciée.

De même **Beylier – Maurel (1976)** a réuni une vingtaine de composés (huiles essentielles) bactériostatiquement actifs en une formulation harmonieuse du point de vue olfactif. Elle a aussi démontré la grande activité de l'huile essentielle de bois de santal sur la microflore de la peau (en particulier sur *S. aureus*) d'où son utilisation dans des formulations cosmétiques.

De ce fait, les huiles essentielles peuvent très bien suppléer aux produits chimiques utilisés dans les produits cosmétiques et plus ou moins tolérés par le consommateur.

II.8 Toxicité des huiles essentielles

La grande majorité des huiles essentielles ne sont pas toxiques et sont absolument sans danger lorsqu'elles sont utilisées de manière judicieuse, autrement dit, en petites quantités et aux faibles concentrations indiquées par des thérapeutes

responsables. Toutefois certaines sont hautement toxiques, même en petites quantités, et d'autres peuvent le devenir si elles sont utilisées sur une longue période.

Il existe des huiles que l'on pourrait qualifier de « limite », car elles présentent certains risques et sont malgré tout assez aisément disponibles ; c'est peut-être pour ce groupe que la plus grande prudence est de rigueur.

Les huiles les plus toxiques, tout comme les huiles douteuses utilisées sur une trop longue période, ont généralement pour effet de détériorer les reins et/ou le foie (**Davis , 2006**).

- Toxicité par ingestion : en règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL50 supérieure à 5 g/kg. En ce qui concerne la Sarriette et l'Origan la toxicité est un peu plus élevée autour des 1.4 g/kg (données observées chez l'animal) **(Bruneton, 1999)**.

- Toxicité dermique : le Thym, l'Origan, la Sarriette sont connues pour leur pouvoir irritant, l'Angélique et la Bergamote sont photosensibilisantes, la Cannelle est dermocaustique et allergisante pour les terrains sensibles **(Pibiri, 2006)**.

- Toxicité selon la composition : certains auteurs **(Franchommeet *al.*, 1990)** ; **(Mailhebiau, 1994)** se basent sur la composition des huiles essentielles et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent.

Tableau n° 02 : quelques composés présentant une certaine toxicité (Richard, 1992)

Composés	Toxicité
(Z)- anéthole, Thujones	Neurotoxiques
Apiole, Myristicine	Psychotropes
Asarones, Safrole	Cancérogènes
Bergaptène, Xanthotoxine	Mutagènes
Capsaïcine, Pipérine	Inflammation
1,8- cinéole	Brûlure (gorge)
Cinnamaldéhyde	Allergie
Coumarines, Psoralène	Phototoxiques
Estragole, Pulégone	Hépatotoxiques

- Toxicité sur des cellules animales ou humaines (cytotoxicité) : les huiles essentielles de Thym et de Lavande selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact (la toxicité du Thym est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour la Lavande **(Inouye, 2003)**, sont cytotoxiques pour des cellules de hamster chinois). Par ailleurs, des huiles essentielles de différentes variétés d'Origan ont montré une forte cytotoxicité sur des cellules humaines dérivées de cancers **(Sivropoulou et *al.*, 1996)**.

II.9 La normalisation des huiles essentielles

Etant des produits naturels, les huiles essentielles sont sensibles à des variations plus ou moins importantes, dues à l'effet du climat, du milieu et à la variété végétale elle-même, en plus des méthodes d'extraction, de traitements préalables et de conservation. D'après ce qui précède, on comprend aisément la nécessité impérieuse de normaliser les huiles essentielles. Cette normalisation vise à bien définir la nature botanique exacte d'une huile essentielle et à lui fixer des caractéristiques analytiques physico-chimiques et chromatographiques tenant compte qu'il s'agit de produits issus du vivant donc soumise à une certaine variabilité. Ce besoin de normalisation ne date pas bien entendu d'aujourd'hui : il s'était fait sentir au niveau des pays importateurs et des utilisateurs d'huiles essentielles au lendemain de la 2^{ème} guerre mondiale.

Des commissions nationales et internationales d'experts s'étaient constituées à l'époque pour s'en occuper (**AFNOR, 1989**).

A ce jour, les réalisations de la normalisation française ont permis la publication de 75 normes concernant :

- la terminologie et la nomenclature botanique
- les monographies ou spécifications relatives aux huiles essentielles
- les méthodes d'analyses physiques et chimiques

- les méthodes d'analyses par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie liquide sous pression.

Elles forment un ensemble homogène constamment remis à jour qui constitue un outil de choix pour le contrôle de qualité au niveau industriel et d'expertise en matière de répression des fraudes.

II.10 Intérêts thérapeutiques, écologiques et économiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. Enphytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires⁵ ou au niveau de la microflore vaginale (**Viollon et al., 1993**) et d'origine fongique contre les dermatophytes(**Chaumont et Leger,1989**). Cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques (**Sivropoulou et al., 1996**) qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans les domaines phytosanitaires et agroalimentaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs qui pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes (**Zambonelli et al., 2004**) et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (**Mangena et Muyima., 1999**).

Les huiles essentielles jouent un rôle écologique dans les interactions végétales, végétale-animales et pourraient même constituer des supports de communication par des transferts de messages biologiques sélectifs. En effet, elles contribuent à l'équilibre des écosystèmes, attirent les abeilles et des insectes responsables de la pollinisation, protègent les végétaux contre les herbivores et les rongeurs, possèdent des propriétés antifongiques, antibactériennes, allopathiques dans les régions arides et peuvent servir de solvants bioactifs (**Robert et al., 1993**) des composés lipophiles(**Kurt Torssell , 1983 ; Croteau,1987**).

Traditionnellement, les huiles essentielles sont présentes dans le processus de fabrication de nombreux produits finis destinés aux consommateurs. Ainsi, elles sont utilisées dans l'agroalimentaire (gâteaux, biscuits, soupe, sauce, chewinggum, chocolats, bonbons...) pour aromatiser la nourriture. Elles sont également utilisées

dans l'industrie de la parfumerie,de la cosmétique et de la savonnerie. On les utilise aussi dans la fabrication des adhésifs (colle, scotch ...), et celle de la nourriture pour animaux, dans l'industrie automobile, dans la préparation des sprays insecticides. L'homéopathie et l'aromathérapie sont des exemples courants d'usage d'huiles essentielles en médecine douce, et leur popularité s'est accrue d'une façon considérable ces dernières années (**Bakkali, 2007**).

II.11 Procédés d'extraction des huiles essentielles

De manière générale, la distillation est un procédé de séparation basé sur la différence de composition entre un liquide et la vapeur engendrée (**Garnero, 1996**). La technique

implique la condensation de la vapeur et la récupération des fractions liquides résultantes. On parle de distillation simple ou fractionnée lorsqu'il s'agit de liquides miscibles. On peut également procéder à la distillation de liquides non miscibles. C'est le cas de l'hydrodistillation des huiles essentielles.

II.11.1 Hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage communément appelé cohobage.

Lors de la distillation des huiles essentielles, plusieurs phénomènes sont à la base d'échanges de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de la production (**Hajji et al., 1985**).

Les expérimentations conduites jusqu'à épuisement du substrat en essence montrent que la durée de la distillation est plus longue pour les organes de plantes ligneuses que pour les herbacées. Cette différence est fortement liée à la localisation des structures d'élaboration ou de stockage des huiles essentielles pouvant être superficielles ou internes. De ce fait, elles ont une influence sur le déroulement de l'hydrodistillation, c'est-à-dire sur les mécanismes successifs mis en jeu, et par conséquent sur la durée.

Dans le cas où ces structures sont superficielles, la membrane externe ou la cuticule qui constituent les seules barrières à la libération de l'huile essentielle, est vite rompue à ébullition, les composés volatils sont aussitôt évaporés. Lorsque les huiles essentielles sont sous-cutanées, elles doivent d'abord diffuser à travers l'épaisseur du tissu végétal avant d'entrer en contact avec l'eau ou sa vapeur. Elles sont alors évaporées comme dans le cas des sécrétions superficielles.

Ainsi durant la distillation, l'eau bouillante pénètre dans les cellules végétales et solubilise une partie de l'huile essentielle de l'appareil sécréteur interne. La solution aqueuse chargée de composés terpéniques, diffuserait ensuite à travers une épaisseur de tissu, plus ou moins dense, selon l'organe, vers la surface extérieure où l'huile essentielle serait vaporisée et entraînée sous forme d'azéotrope.

Cependant, on attribue le terme d'hydrodiffusion à ce type de transport contrôlé par la polarité des constituants. Elle serait responsable de la vitesse relative de la distillation des différents composés aromatiques, dépendant davantage de leurs solubilités dans l'eau que de leurs points d'ébullition. Si l'hydrodiffusion constituait l'étape limitante de l'hydrodistillation, alors l'ordre de sortie des composés serait dicté par leur polarité et non par leur volatilité (**Acquaronne et al., 1998**). Dans le cas de composés de volatilité et de polarité intermédiaires tels que les esters mono terpéniques, ni la vitesse d'hydrodiffusion ni la vitesse d'évaporation ne seront négligeables. L'hydrodiffusion et la vaporisation ne constituent pas les seuls mécanismes mis en jeu lors de l'hydrodistillation ; il faut leur associer la décantation qui fait intervenir une vitesse de transfert de matière entre deux phases liquides. L'isolement de composés volatils après leur distillation est déterminé dans une large mesure par leur degré de solubilité dans l'eau.

Par conséquent, l'eau résiduelle peut être plus ou moins saturée en constituants polaires selon la difficulté de séparation des phases. Celle-ci peut avoir trois origines éventuellement combinées : une partie de l'huile essentielle est dissoute dans l'eau, soit 1% environ de la fraction décantée, rarement plus de 2% et exceptionnellement supérieure à 5% dans le cas de certains composés polaires phénoliques. Une autre fraction est émulsionnée le plus souvent dans 10% d'eau. Enfin, une quantité est fortement mélangée avec de l'eau et des molécules organiques tierces. A l'interface huile/eau, elle peut être supérieure à 10%.

Dans ces conditions, les pertes dues à une mauvaise décantation peuvent atteindre 25% et plus, de l'essence recueillie.

La distillation à la vapeur (Likens-Nickerson) combine les avantages de l'hydrodistillation et de l'extraction au solvant. L'hydrodistillation permet d'éviter l'extraction des composés non volatils, et l'utilisation en faible quantité d'un solvant non miscible à l'eau facilite l'extraction des composés organiques (**Pollienet al., 1998**).

Ce procédé très efficace, repose sur le chauffage en parallèle de la matrice (dans l'eau) et du solvant. Les vapeurs sont dirigées vers un extracteur central et se condensent sur un doigt froid. Les liquides sont collectés et décantés dans la partie basse de l'appareil, puis retournent dans leurs ballons respectifs.

L'avantage principal de cette méthode réside dans ce recyclage, qui assure une faible consommation de solvant et la préconcentration de l'extrait. Bien que tout solvant organique non miscible dans l'eau puisse être utilisé (en ajustant l'appareil en fonction de sa densité),

l'inconvénient majeur de cette méthode, tout comme pour l'entraînement à la vapeur, réside dans la formation possible d'artefacts dus au chauffage de la matrice en milieu aqueux (**Chaintreau, 2001**). Néanmoins, cette limite a conduit à développer des extractions sous pressions réduites à des températures proches de la température ambiante (**Pillonelet al., 2002**).

II.11.2 Techniques d'extraction des composés organiques volatils (COV)

Facilement automatisables, simples, les techniques de l'espace de tête ou Headspace ne requièrent pas de grandes quantités d'échantillon (**Kolb, 1999**). La possibilité d'avoir des artefacts et de contaminations est très faible si on manipule avec soin. La méthode consiste à extraire les composés organiques volatils émis par un échantillon liquide ou solide (**Pillonelet al., 2002; Pawliszyn, 2003**). Pour cela, une petite quantité de l'échantillon est placée dans un flacon hermétiquement clos par un septum en PTFE/silicone. Un équilibre entre l'échantillon et la phase gazeuse est nécessaire, une partie de cette dernière est prélevée pour être analysée, le plus souvent par Chromatographie en phase gazeuse (CPG). Pour les matrices peu odorantes, un chauffage léger peut être appliqué pour atteindre plus rapidement l'équilibre.

Ces techniques sont complémentaires des méthodes d'extraction aux solvants organiques.

Cependant, la concentration relative des composés dans l'espace de tête ne reflète pas leur concentration réelle dans l'échantillon (**Matichet al., 1999**).

II.11.3 Espace de tête statique (atmosphère confinée)

Dans la technique de l'espace de tête statique ou StaticHeadSpace (SHS), la phase gazeuse en équilibre avec l'échantillon est prélevée à l'aide d'une seringue à gaz ou d'une boucle d'injection et injectée directement dans un chromatographe. Cette technique est parfaitement automatisée, reproductible et très utile pour un criblage rapide de nombreux échantillons (**Kolb, 1999**). L'inconvénient majeur de cette méthode est la discrimination des composés selon leur volatilité, les composés les plus volatils saturant très rapidement l'espace de tête.

L'espace de tête statique est généralement utilisé pour extraire et quantifier des composés très volatils de matrices alimentaires (**Fleming Jones et al., 2003**).

II.11.4 Espace de tête dynamique

La méthode de l'espace de tête dynamique ou Dynamic Headspace (DHS) (**Da Costa et al., 2005**) consiste à entraîner les composés volatils d'un échantillon à l'aide d'un gaz vecteur inerte (azote ou hélium) et de les piéger dans un tube en verre désactivé ou en acierinoxydable rempli de carbone ou d'un polymère organique poreux. Les polymères utilisés (Porapak™, Carboxen™, Tenax™, Chromosorb™) ont une grande surface spécifique et possèdent tous la propriété de retenir faiblement les composés polaires de masse molaire peu élevée. Le Tenax™ est le polymère le plus employé ; très stable thermiquement et hydrophobe, il est peu sélectif ce qui en fait un piège de choix pour extraire les COVs, puis les analyser par CPG (**Pillone et al., 2002**). Pour faciliter la saturation de l'espace de tête, les échantillons sont fréquemment chauffés et/ou agités pendant l'extraction. Les composés organiques retenus par le piège sont ainsi concentrés. Cependant, il est possible de dépasser la capacité du piège, ce qui peut conduire à la perte de nombreux composés lors de l'extraction.

II.11.5 Espace de tête pseudo-dynamique

Les techniques d'adsorption ou désorption sont très utilisées pour l'analyse des Composés Organiques Volatils (COV). Elles permettent l'extraction et la

concentration des composés volatils sans solvant. Elles sont basées sur la partition des composés organiques entre une phase aqueuse ou gazeuse et un film polymérique de faible épaisseur. Dans ce groupe, on peut distinguer trois grandes techniques : la microextraction en phase solide (SPME), l'extraction par adsorption en espace de tête (Headspace Sorptive Extraction, HSSE) et l'extraction dynamique en phase solide (Solid Phase Dynamic Extraction, SPDE).

Microextraction en phase solide (SPME). Cette méthode d'extraction présente l'avantage de regrouper toutes les étapes de la préparation d'un échantillon (extraction, concentration, dérivation et transfert au chromatographe) en un seul procédé. En particulier, elle peut se révéler une meilleure méthode pour les analyses qui requièrent des extractions longues et coûteuses et nécessitent une grande consommation de solvants. Elle utilise une fibre de silice (1 à 2 cm de long) recouverte d'un film polymérique pour extraire les composés organiques d'un échantillon (**Burgot et al., 2003**). La SPME est une technique d'extraction sans solvant très simple et rapide qui est maintenant parfaitement automatisée. Les fibres peuvent être réutilisées une cinquantaine de fois, ce qui en fait une technique peu onéreuse. Cependant, l'optimisation des conditions d'extraction peut se révéler assez longue.

En effet, il est nécessaire de déterminer la fibre la plus efficace, les temps et les températures d'incubation et d'échantillonnage, pour chaque échantillon. De plus, une fois ces conditions obtenues, il peut s'avérer difficile d'obtenir des résultats répétitifs et reproductifs ce qui pourrait être dû à un manque d'homogénéité entre certains lots de fibres. De par sa simplicité et son coût modéré, la SPME est une bonne technique pour l'identification et la comparaison rapide et efficace d'arômes (**Schmitt et al., 2005**); elle est utilisée pour l'analyse de nombreuses matrices alimentaires comme les produits laitiers (**Lubbers et al., 2004**), les fruits et légumes (**Wang et al., 2000**). En effet, la quantité du composé cible adsorbée dépend fortement des conditions d'extraction : température, temps d'incubation et d'extraction, agitation, volumes de l'échantillon et de la phase gazeuse. Elle dépend également de la nature, de l'usure de la phase d'extraction (perte de sa capacité d'adsorption ou de sorption au cours du temps) et de la nature des autres constituants caractérisant le mélange.

II.12 Phénomènes physico-chimiques et facteurs produisant l'altération des huiles essentielles

Au cours de l'hydrodistillation, le milieu aqueux possédant un pH compris entre 4 et 7 (résultant de l'immersion du matériel végétal), atteint occasionnellement des valeurs inférieures à 4 pour certains fruits. Les constituants de l'essence native sont soumis aux effets combinés de l'acidité et de la chaleur, et peuvent subir des

conversions chimiques (**Morin et al., 1985**). L'huile essentielle récupérée est un produit qui diffère sensiblement de l'essence originelle, d'autant plus que l'ébullition est longue et le pH faible.

La matière chimique présente dans le végétal fait l'objet de réactions chimiques diverses : hydrolyses, déprotonations, hydratations et cyclisations pouvant être catalysées par des métaux présents à l'état de traces dans la plante, provoquant des transformations chimiques des constituants (**Koedam, 1982**).

L'hydrolyse d'esters est souvent la première réaction qui se produit durant le chauffage du végétal. Elle conduit à la formation d'acides organiques qui à leur tour catalysent les réactions de cyclisation et de déshydratation. La dégradation du sabinène donne un exemple des transformations chimiques de l'huile essentielle lors de l'hydrodistillation.

Les fréquentes modifications chimiques du sabinène ont été étudiées par Koedam et *al.* (Koedam et *al.*, 1980). Ils constatèrent qu'en milieu acide dilué ce composé se transforme en enterpinène-4-ol, réaction déjà signalée par Wallach et *al.* (Wallach, 1907).

Pour limiter les artéfacts, Richard et *al.* (1992) préconisent de maintenir le pH proche de la neutralité et de minimiser la durée d'hydrodistillation, quand bien même, il est bien connu que la dégradation de la matière végétale induit la formation d'un milieu acide fortement tamponné.

En résumé, parmi les constituants sujets aux artéfacts, les auteurs signalent particulièrement :

- les monoterpènes (mono et bicycliques),
- les alcools monoterpéniques,
- les amino-acides soufrés et les oxydes sesquiterpéniques.

Les étapes successives conduisant à l'isolement d'une essence et les diverses transformations susceptibles de l'accompagner se traduisent par la modification de la teneur en certains constituants ou par la formation de nouveaux composés, d'où une grande variabilité de sa composition. De profondes modifications de l'huile essentielle peuvent intervenir lors de l'exploitation des végétaux depuis leur collecte jusqu'à leur transformation industrielle.

La période de récolte, les conditions de transport, de séchage et de stockage peuvent engendrer des dégradations enzymatiques. Les changements les plus importants interviennent lors de l'hydrodistillation sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (pH, température) et de la durée d'extraction.

D'autres facteurs tels que les traitements survenus avant ou pendant l'hydrodistillation (broyage, dilacération, dégradation chimique, pression, agitation) contribuent à la variation du rendement et de la qualité de l'huile essentielle.

Les variations de la composition des huiles essentielles provenant d'un même phénotype se développant dans le même environnement sont l'expression de différences génotypiques.

Elles peuvent être attribuées à des hybridations, à un polymorphisme génétique ou à des mutations.

II.13 Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles

Une fois l'extrait le plus représentatif obtenu, l'analyse permet d'identifier et de quantifier les produits qui le composent. Les progrès des méthodes analytiques permettent d'identifier rapidement un très grand nombre de constituants.

II.13.1 Chromatographie en phase gazeuse monodimensionnelle

La séparation et l'identification des constituants volatils d'un extrait présente bien moins d'alternatives que sa préparation. En effet, la CPG est la méthode de référence dans l'analyse des huiles essentielles et des COVs (**Lehotay et al., 2002**) ; elle permet l'analyse de mélanges, qui peuvent être très complexes, de nature et de volatilité très variées (**Arpino et al., 1995**).

II.13.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG/O)

Les huiles essentielles obtenues renferment très souvent des centaines de composés volatils.

Le couplage CPG/O combine la séparation des composés volatils par CPG avec l'évaluation olfactive. En sortie de colonne, une partie des composés élués est envoyée vers un cône de détection nasale qui permet l'évaluation olfactive en même temps que l'enregistrement du chromatogramme.

Tous les types de détecteurs peuvent être utilisés en parallèle au port d'olfaction, mais ce sont les détecteurs FID ou de masses qui sont les plus fréquemment utilisés.

Afin d'éviter l'inconfort dû aux effluents chauds et la déshydratation de la muqueuse nasale qui conduit à une perte de sensibilité, de l'air humide est ajouté en sortie de cône (**Hanaoka et al., 2000**). L'opérateur enregistre ses données olfactives grâce à divers dispositifs de saisie (bouton presseur, curseur, enregistrement vocal) reliés à un ordinateur. La CPG/O trouve de nombreuses applications tant en Recherche et Développement qu'en Contrôle Qualité.

En effet, un certain nombre de composés à odeurs négatives (off flavour) ne sont pas détectés par les instruments classiques. Dans ce cas, la CPG/O est un moyen très efficace pour les mettre en évidence grâce au faible seuil de perception du nez humain.

Deux types de données peuvent être obtenus lors d'une analyse CPG/O. Tout d'abord la sensation perçue par l'évaluateur qui est décrite à l'aide d'un descripteur et l'intensité de la perception.

II.13.3 Chromatographie en phase gazeuse à deux dimensions

La chromatographie bidimensionnelle consiste à coupler deux colonnes de polarités différentes pour avoir une séparation parfaite. Cette méthode est appliquée aux mélanges complexes présentant de nombreuses co-élutions. Parmi les méthodes de chromatographie à deux dimensions, on distingue la méthode dite par piégeage « heart-cutting », notée CPGCPG (**Dunn et al., 2004**), de la chromatographie totale, notée GC×GC(**Dugoet al., 2005**).

II.13.4 Chromatographie à deux dimensions heart-cuttingCPG/SM

La CPG-CPG était la première méthode de chromatographie bidimensionnelle (**Dunn et al., 2004**). Cette méthode consiste à sélectionner une fraction du chromatogramme qui est mal résolu sur la première colonne pour la séparer sur la seconde colonne (**Schomburg, 1995**).

Cette méthode consiste à utiliser deux colonnes, deux détecteurs et un système de piégeage (**Figure n° 07**). Le plus souvent, la première colonne est une colonne apolaire (PDMS) de dimensions classiques. La seconde colonne est alors polaire (PEG), mais bien plus courte et de plus faible diamètre pour permettre une élution rapide. Il est également fréquent d'utiliser une colonne chirale comme seconde colonne (**Marriott et al., 2003**). Les deux colonnes peuvent être placées dans le même four ou non. Le piégeage d'une fraction à la sortie de la première colonne se fait le plus souvent à l'aide d'une trappe cryogénique. Elle permet de stocker les composés élués de la fraction jusqu'à ce que la seconde colonne soit disponible pour l'analyse.

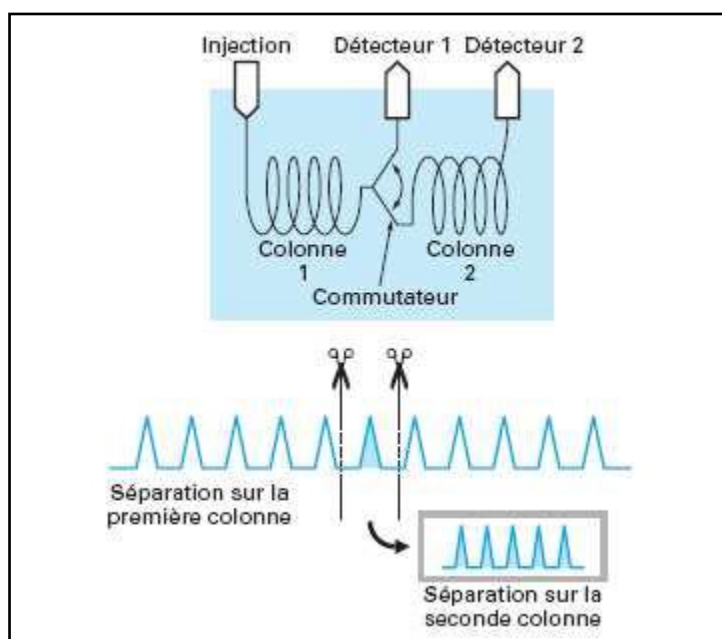


Figure n°07 : Séparation par une Chromatographie en phase gazeuse à deux dimensions CPG-CPG

II.13.5 Chromatographie totale CPG-2D

La chromatographie totale, ou *Chromatographie compréhensive* GC×GC, permet d'étudier tous les composés élués de la première colonne sur la seconde, non pas comme la CPG-CPG où une fraction subit une séparation sur la deuxième colonne.

Elle a pour principe l'injection continue de petites fractions éluées de la première colonne dans la seconde (**Beens et al., 2005**). Tout comme dans la CPG-CPG, on utilise deux colonnes de polarités différentes, la seconde ayant une dimension beaucoup plus faible (0,5 à 1,5 m, diamètre interne compris entre 0,1 et 0,25 mm, épaisseur de film de 0,1 µm) (**Dalluge et al., 2003**). Ainsi, les différentes fractions sont analysées et conduisent chacune à de petits chromatogrammes. L'ensemble des chromatogrammes enregistrés au cours de l'analyse est représenté dans un diagramme à deux dimensions, communément nommé *contour plot*, sur lequel l'abondance des composés détectés est traduite par des couleurs variables.

À l'heure actuelle, le seul détecteur de masse parfaitement adapté au couplage à la CPG-2D est le détecteur de masse à temps de vol (GC×GC/TOF-MS). Ce spectromètre possède la vitesse d'acquisition des spectres (> 500 Hz), autorisant l'enregistrement de 10 à 20 spectres par pic, nécessaire au couplage à la CPG-2D.

III.1 Généralités

Les aliments lipidiques ne peuvent être stockés que pendant des périodes courtes à cause de la résistance insuffisante à l'oxydation par l'oxygène. Dans les aliments séchés, l'oxygène peut pénétrer très facilement dans la phase lipidique et la stabilité de ces aliments devient donc plus faible en présence d'eau. Ainsi, la stabilité des aliments séchés doit être testée, et si nécessaire, la fraction lipidique doit être préservée en rajoutant des antioxydants dans la formulation du produit alimentaire.

L'oxydation des lipides est une cause majeure de la détérioration de la qualité des aliments contenant des matières grasses, d'où l'utilisation devenue de plus en plus fréquente des antioxydants. Les antioxydants synthétiques les plus utilisés sont le hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT), ces deux composés sont assez volatils et se décomposent rapidement à des températures élevées (**Branen, 1975**). Il existe de sérieux problèmes concernant l'utilisation et la toxicité de ces deux produits synthétiques, tant au niveau de leur métabolisme que de leur accumulation dans les tissus de l'organisme humain (**Linderschmidt et al., 1986**) ; ainsi les préparations d'antioxydants naturels sont vivement recherchées.

Depuis l'antiquité, les plantes aromatiques furent utilisées le plus souvent par les parfumeries. Cependant, durant ces dernières décennies, elles sont devenues sources d'antioxydants naturels et d'agents antimicrobiens (**Bandoniène et al., 2000**).

Les huiles essentielles quant à elles, ainsi que les extraits aromatiques ont été utilisées pour leurs propriétés antiseptiques. Dans l'Egypte ancienne, les techniques de l'embaumement utilisant les résines aromatiques, ainsi que l'huile essentielle, produisaient une inhibition puis une destruction de tous les microorganismes présents, en assurant une conservation pratiquement infinie du corps. Dans les vieux ouvrages de médecine, les résines aromatiques ou l'huile essentielle étaient les principes actifs qu'on peut retrouver dans les différentes drogues végétales ayant des propriétés antiseptiques significatives. Dans les ouvrages les plus récents, l'utilisation des huiles essentielles dans l'aromathérapie laisse entrevoir une perspective d'alternative aux médicaments de synthèse.

Les plantes aromatiques possèdent plusieurs activités biologiques, parmi lesquelles on peut citer les activités suivantes :

- * Fongistatique
- * Insecticide
- * Nématicide

- * Herbicide
- * Bactériostatique
- * Antioxydante

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens.

Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques. Le thymol est très irritant, astringent et caustique.

Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires.

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Lamiacées : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc...l'huile essentielle de thym d'Espagne (*Thymus capitatus*) est souvent rapportée comme étant parmi les huiles les plus actives.

III.2 Huiles essentielles comme agents antimicrobiens

Depuis l'Antiquité, les extraits aromatiques des plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme pour les médicaments et la parfumerie (Heath, 1981). Les huiles essentielles ont été considérées comme les agents antimicrobiens les plus efficaces présents dans ces plantes. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ième} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues à la fraction des huiles essentielles contenue dans les plantes. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. Mais la tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle, a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour ces substances (**Essawi et al., 2000**). Depuis deux décennies, des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans le domaine alimentaire.

Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments. Ainsi, les huiles essentielles, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antimicrobiennes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart classés "généralement reconnus comme sains" (Generally Recognized As Safe GRAS), ou approuvés comme additifs alimentaires par la Food and Drug Administration. Ils n'ont, par conséquent, pas besoin d'autorisation d'emploi dans les aliments ; cependant, des études préalables sont nécessaires afin de mieux cerner leur activité antimicrobienne.

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Sipailiene et al., 2006**). Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines.

Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production des pseudomycéliums alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures.

La mesure manuelle des zones d'inhibition peut prendre du temps. Les dispositifs automatisés avec zone de lecture sont disponibles et peuvent être intégrés avec le rapport de laboratoire et les systèmes de manipulation de données. Les disques devraient être distribués également de sorte que les zones d'inhibition autour des disques antimicrobiens dans l'essai de diffusion en disque ne se chevauchent pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puisse être déterminée.

Généralement cela peut être effectué si les disques sont distants d'au moins 24 mm de centre à centre, bien que cela dépende de la concentration du disque et de la capacité de l'antimicrobien à diffuser dans la gélose.

III.3 Facteurs liés à l'huile essentielle

Plusieurs travaux ont indiqué que l'efficacité d'une huile essentielle, sur un même micro-organisme, diffère d'une plante à l'autre ; ainsi, en comparant les huiles essentielles de *Thymus zygis*, *T.broussonetti* et *T.satureioides*, sur la destruction de la levure *Candida albicans*, **Lattaoui et Tantaoui-Elaraki, (1995)** ont montré un effet plus efficace de *T. zygis*. Etudiant l'effet des huiles essentielles d'origan, d'armoise et d'eucalyptus, **Tantaoui-**

Elaraki et al., (1993), ont montré qu'elles étaient actives sur toutes les étapes de la reproduction asexuée des espèces fongiques testées. Cependant, l'huile essentielle de l'armoise s'est toujours révélée plus efficace.

III.4 Facteurs liés aux micro-organismes

Différents travaux ont souligné la sensibilité différentielle des micro-organismes vis-à-vis des huiles essentielles. Cette sensibilité est très variable et dépend de trois paramètres :

III.4.1 L'espèce microbienne

Les moisissures sont généralement plus sensibles aux huiles essentielles, les bactéries se montrent d'une sensibilité comparable (**Benjilali et al., 1986**).

Pour les huiles essentielles de thym, les moisissures étaient plus sensibles que les bactéries à l'inhibition, mais plus résistantes à la destruction. La différence de sensibilité des champignons est due à la perméabilité variable des parois mycéliennes et sporale liée à leur nature chimique (**Mallea et al., 1979**).

Les bactéries à Gram positif semblent être généralement plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif. La paroi de ces dernières serait moins perméable aux agents antimicrobiens car elle est de structure plus complexe (**Russel et Path, 1983**).

La couche externe formée de polysaccharides, protéines et lipides agirait comme une barrière à la pénétration de différents agents anti-microbiens.

Il faut aussi signaler que la sensibilité des micro-organismes aux huiles essentielles est très variable non seulement d'un germe à un autre mais aussi d'une souche à une autre pour une même espèce (**Bouchird et Flegel, 1982**).

III.4.2 L'âge de la culture microbienne

La sensibilité des champignons à l'action inhibitrice des aldéhydes varie considérablement avec l'âge de la culture : plus celle-ci est âgée, plus elle devient sensible à l'action des huiles essentielles (**Kurita et al., 1979**).

III.4.3 L'effectif de la population

La taille de l'inoculum a été également soulevée dans un travail de **Dabbah (1970)**. L'augmentation de l'inoculum initial de 10^4 à 10^8 pour *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ne change pas le pourcentage d'inhibition de ces cultures par l'huile essentielle d'orange. Cependant, **Mantis (1979)** a rapporté que l'augmentation de la taille d'inoculum diminue l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'ail contre les spores de *Clostridium perfringens*.

De façon générale, une augmentation de la population microbienne exige des concentrations élevées des huiles essentielles pour l'éliminer (**King et al., 1972**).

III.5 Mécanisme d'action antimicrobienne des huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé (**Kalemba et Kunicka, 2003 ; Burt, 2004**). Compte-tenu de la diversité des molécules présentes dans les huiles, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires (**figure n° 08**).

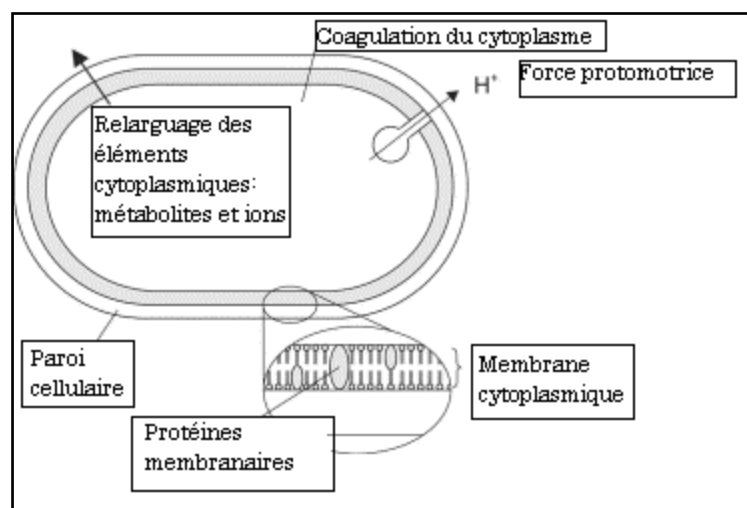


Figure n° 08 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (**Burt, 2004**)

Le pouvoir antiseptique des huiles essentielles et leurs mécanismes d'action sont liés à leur richesse en phénols, alcools et éthers. De nombreuses propriétés biologiques des monoterpènes et des sesquiterpènes ont été découvertes dans les huiles essentielles, malheureusement, leurs actions individuelles étaient difficilement transposables à l'huile essentielle entière.

Selon **Franchomme (1981)**, le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles serait dû à un double apport protonique et anionique. Pour certaines plantes aromatiques à action brutale et rapide, il a défini les fractions responsables de cette action, il s'agit de regroupements phénoliques.

En effet plusieurs huiles essentielles possédant une structure phénolique ont donné une activité antimicrobienne importante. Certains auteurs ont suggéré que les huiles essentielles affectent la croissance des cellules par un mécanisme similaire à celui des phénols. Ces derniers attaqueraient la membrane de la bactérie en altérant ainsi sa perméabilité, le système de transport d'électrons et celui de production d'énergie.

Cependant, **Gocho (1991)** a avancé que l'action antibactérienne des huiles essentielles serait due à l'existence de fonctions aldéhydes.

Thoroski (1989) a rapporté que l'eugénol était à l'origine d'une lyse cellulaire de *B.subtilis*, de la formation d'ondulations ou de bosses qui ont été observées sur les cellules. De même, l'action de ce constituant a conduit à la formation de cellules plus longues que celles qui sont multipliées normalement suite à une perte de la production d'enzymes lipolytiques impliqués dans la division cellulaire. Des observations similaires ont été rapportées sur des micro-organismes tels qu'*E.coli*, *Lactobacillus* et *Salmonella*. Et il a été démontré que la présence ou l'absence d'acides aminés spécifiques pourraient provoquer ou annuler cette croissance anormale.

Il est à noter que les études réalisées jusqu'à nos jours, n'ont pas pu élucider de façon concluante le mécanisme d'action antimicrobienne des huiles essentielles vu la complexité de leur composition chimique. Il est difficile de donner une idée précise sur leur mode d'action et il semblerait que chaque constituant agisse par son propre mécanisme.

*** Autres pouvoirs biologiques des huiles essentielles**

- On reconnaît aux huiles essentielles des propriétés biologiques comme antispasmodiques. Anti-inflammatoire (essence de camomille), analgésique (girofle), carminative (cannelle), vermifuge (citron).

- Pouvoir antioxydant des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont aujourd'hui utilisées comme substance capable de piéger les radicaux libres considérés comme responsables de nombreuses maladies dégénératives telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer.

L'huile essentielle de romarin par exemple très demandée sur le marché et l'huile de pamplemousse sont utilisées en dermatologie comme substances antioxydantes grâce à leurs compositions riches en bio-flavonoïdes qui agissent comme des antiradicaux libres en centralisant les molécules d'oxygène néfastes et responsables du vieillissement. Un autre exemple, l'huile essentielle de raifort (*Armoracia rusticana*) utilisée en agro-alimentaire pour la conservation du rôti de bœuf précuit qui permet, la diminution de la croissance des bactéries et le retard du développement d'odeurs atypiques dues aux produits d'oxydation (**Ward et al., 1998**).

- Propriétés anticorrosives des huiles essentielles :

Les produits organiques d'origine naturelle, jouent un rôle majeur comme inhibiteur de la corrosion. Cette dernière propriété ouvre de nouvelles perspectives d'utilisation de ces substances en alternative des substances chimiques minérales et/ou de synthèse de plus en plus soumises à des restrictions législatives (**El-Etre, 1998 ; El-Etre et al., 2005**). La littérature sur l'étude des huiles essentielles comme inhibiteurs de la corrosion est très récente. Ainsi, les huiles essentielles de tanaïsie, de romarin et d'armoïse blanche ont montré un pouvoir de corrosion satisfaisant en milieu HCl (**Greche, 1999 ; Chaieb et al., 2004, Bouyanzer et Hammouti, 2004**).

III.6 Activité insecticide des huiles essentielles

La mise en évidence du potentiel insecticide des huiles essentielles est un moyen non

seulement de comprendre l'utilisation traditionnelle des plantes pour la protection des denrées mais aussi d'offrir des possibilités nouvelles par la mise en œuvre d'extraits de plantes. **Desphande et Tipnis (1977)** ont montré la toxicité de certaines huiles essentielles dont *Ocimum basilicum* sur *Sitophilusoryzae* et sur *Triboliumcastaneum* (**Shaaya et al.,1997**). D'autres travaux récents (**Bekele et al.,1996 ; Shaaya et al., 1997 ; Sékou Moussa et al., 2000 ; Ngassoum et al., 2003 ; Sékou Moussa et al., 2001 ; Ngamo et al., 2001 ; Kim et al., 2003 ; Lee, 2002**)mettent également en évidence la toxicité des huiles essentielles. Ces travaux révèlent que l'effet des huiles sur les insectes n'est pas systématique car on observe des réponses différentes suivant l'espèce d'insecte et d'huile essentielle. Ainsi d'après **Shaaya et al. (1997)***T. castaneum* (LC50=11,1 µL.L-1) est plus résistant que *S. oryzae* (LC50=7,5 µL.L-1) ou *Rizopertadominica*(LC50=9,6 µL.L-1) a l'effet fumigeant de l'huile essentielle de menthe, alors qu'il est deux fois plus sensible a l'huile essentielle d'*Eucalyptus nicholii*que *S. oryzae* (**Lee, 2002**).

D'autres travaux ont montre l'effet régulateur de croissance des huiles essentielles. On peut parler de la sensibilité des larves de *T. castaneuma* l'huile essentielle de *X. aethiopica* et *O. gratissimum*qui diminue avec l'âge (**Kouninki et al., 2005 ; Douka, 2002**). Le développement des insectes est également freiné par la toxicité inhalatrice des huiles sur les adultes. **Sékou Moussa et al. (2001)** ont fait une étude sur l'action des huiles essentielles de *O. basilicum* et *O. gratissimum* et montrent que les mâles de *C. maculatus* sont plus sensibles que les femelles à ces huiles. Cette vulnérabilité des mâles face aux huiles essentielles semble généralechez les insectes (**Regnault-Roger, 2002**). Par ailleurs ils n'observent pas d'effet significatif des huiles essentielles d'*O. basilicum*et *O. gratissimum* sur la germination des grains.

Un autre moyen d'évaluer l'activité des huiles essentielles est de travailler non pas avec le mélange complexe qu'elles représentent, mais d'étudier l'action spécifique des principaux composés des huiles essentielles. Plusieurs monoterpènes(eucalyptol, limonène, eugénol, isoeugénol, méthyleugénol, camphre, acétate de bornyle, myrcene, α-phellandrene, α-pinène, sabinène, terpinolène) ont été testés par **Obeng-Ofori et al. (1996), Obeng-Ofori et Reichmuth (1997), Prates et al. (1998), Huang et al. (2002), Park et al. (2003)**. Tous ces auteurs arrivent à la même conclusion sur la toxicité des composés des huiles essentielles : des taux de mortalité de 100% sont atteints et l'inhibition totale de ponte et d'éclosion des insectes sur les graines traitées est conservées. Cependant, l'action des composés est certes puissante mais de courte durée. Ainsi, **Obeng-Ofori et al. (1996)**, prolongent l'activité de

l'eugenol et de l'eucalyptol sur le maïs de 24h à 90 jours, en les combinant aux huiles végétales. L'efficacité des huiles essentielles en tant qu'insecticides est la préoccupation de nombreux chercheurs. Les travaux effectués concourent à mettre en évidence les différents éléments pouvant accroître l'action des huiles essentielles contre les insectes ravageurs. Ces études constituent une étape indispensable pour le développement de l'utilisation des huiles essentielles dans la lutte contre les ravageurs de grains. Pour tous ces auteurs, les huiles essentielles sont des substances fumigènes dotées de réelles potentialités insecticides à valoriser.

III.7 Aperçu sur les techniques d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles.

L'examen des données bibliographiques fait apparaître d'emblée de diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité anti-microbienne des huiles essentielles. L'insolubilité des huiles essentielles dans l'eau et d'une manière générale dans les milieux aqueux largement utilisés en microbiologie, est une explication de la variété des techniques. Selon la souche microbienne, l'huile essentielle et l'application choisie, divers milieux de culture peuvent être mis en œuvre.

Les différents protocoles peuvent ainsi être classés :

- 1- selon le milieu dans lequel se fait la diffusion de l'huile essentielle, soit liquide, solide ou gazeux,
- 2- selon la nature du contact de l'huile essentielle avec le germe : diffusion sur disque, solution alcoolique ou dispersion dans un émulsionnant (**Pibiri, 2006**).

III.7.1 Techniques en milieu liquide

III.7.1 .1 Méthode des disques de Sarbach

L'essence est déposée à différentes concentrations sur des disques en papier filtre de 10 mm de diamètre, l'ensemble est placé dans des tubes à essai. Dans chaque tube est réparti un certain volume de bouillon nutritif ensemencé. Une agitation mécanique est assurée pendant toute la durée de l'incubation.

L'action bactéricide totale est confirmée par repiquage en milieu liquide d'une anse prélevée sur le milieu liquide de subculture. Le pouvoir bactéricide partiel est apprécié par

l'évaluation du pourcentage de survivants par repiquage en milieu solide (**Banquour, 2000 ; Benouda, 1982**).

III.7.1.2 Méthode de Maruzuella

Elle permet l'étude du pouvoir bactéricide en bouillon après solubilisation de l'huile essentielle dans l'éthanol. Les solutions mères sont préparées dans l'éthanol 95%, la solution alcoolique est ensuite répartie à différentes doses dans le milieu liquide préalablementensemencé. Après la durée d'incubation, on effectue des subcultures qui permettent d'évaluer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) (**Banquour, 2000**).

III.7.2 Techniques en milieu solide

III.7.2.1 Méthode de Vincent

Elle est appelée aussi technique de l'antibioaromatogramme (**Jacob et al., 1979**). Dans cette méthode, on utilise des disques de papier filtre de 10 mm de diamètre, imprégnés d'huile essentielle et déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablementensemencé en surface à l'aide d'une suspension bactérienne.

Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition en mm.

La dilution des huiles essentielles se fait toujours dans un solvant tel que l'éthylèneglycol (**Dayalet Purohit R, 1971**) l'acétone (**Martinez et al., 1973**) l'éthanol à 95% (**Conner et Beuchat, 1984**).

Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'huile essentielle par diffusion dans la gélose. Cette technique inspirée de celle des antibiogrammes, a été généralisée aux huiles essentielles (**Cornet, 1981**).

Une variante de cette technique consiste en l'aménagement de cavité à l'emporte pièce, dans la gélose coulée et solidifiée en boîte. On remplit cette cavité d'un volume donné d'huile essentielle qui va diffuser dans la gélose, et on procède, après incubation, à la mesure du diamètre d'inhibition comme dans la technique précédente (**Tharib et al., 1983**).

III.7.2.2 Méthode de Morel et Rochaix

Elle permet d'évaluer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles par solubilisation dans l'alcool à différentes concentrations et incorporation de chacune des concentrations dans un milieu gélosé,ensemencé, puis coulé en boîtes de Pétri. L'alcool faciliterait la diffusion de l'essence dans le milieu (**Beylier-Maurel, 1976**).

III.8 Détermination des CMI et CMB par dispersion des huiles essentielles dans le milieu de culture.

Cette technique de détermination des CMI par contact direct en milieu gélosé ou liquide, consiste à disperser l'agent antimicrobien en concentration variable de façon homogène et stable dans le milieu de culture du germe étudié (**Drugeon et al., 1991**). Cette technique, très fiable et reproductible pour les agents antimicrobiens hydrosolubles, pose un problème de diffusion et d'homogénéité de dispersion avec les huiles essentielles qui ont une très faible solubilité dans les milieux de culture aqueux. Ce problème a été résolu en partie par l'utilisation d'émulsions des huiles essentielles dans des solutions de différents détergents comme le Tween 20 et le Tween 80 (**Allegrini et al., 1973, Benjilali et al., 1986 ; Pellecuer et al., 1976**) ou de solvant comme l'éthanol (**Beylier-Maurel, 1976 ; Simeon et al., 1976**).

La plupart des méthodes utilisées ont été critiquées par plusieurs auteurs (**Narashima et Subba, 1972**). Ces critiques ont été basées sur la discordance observée dans les résultats obtenus dans l'étude de la zone d'inhibition et l'étude de l'inhibition de la croissance à différentes concentrations d'huile essentielle.

Bon nombre d'études ont montré que la sensibilité d'un même germe vis-à-vis d'une même huile essentielle diffère selon la méthode utilisée ou selon le mode de dispersion de l'huile essentielle dans le milieu de culture, ce qui rend toute comparaison inexacte et pousse les chercheurs à bien choisir et améliorer les techniques d'étude.

L'origine de ces critiques est aussi la variation de la densité bactérienne utilisée pour l'inoculum ainsi que la difficulté à déterminer le meilleur agent émulsifiant pour avoir des proportions minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides (CMB) reproductibles et comparables entre les différents manipulateurs. D'autres critiques ont été soulevées concernant l'interaction entre les agents émulsifiants et les constituants des

huiles essentielles car, en raison de leur faible solubilité, les agents utilisés pour la dispersion des huiles essentielles dans le milieu de culture bactérien, représentent un facteur important pour la mesure de leur activité antibactérienne. Ce problème a été résolu par des travaux réalisés dans notre laboratoire par **Remmal et al (Remmal et al., 1993a ; Remmal et al., 1993b)** en milieu liquide et en milieu solide, qui ont montré que les CMI et CMB obtenues en

Absence de détergents ou de solvants - dispersion dans l'agar 0,02%- sont nettement inférieures à celles obtenues en leur présence. Ceci démontre que le Tween et l'éthanol, couramment utilisés dans ce type d'étude, exercent une inhibition sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles.

I.1 Situation géographique

La zone concernée par cette étude est la partie sud-ouest des hautes plaines oranaises. Elle se rattache administrativement aux wilayas de Sidi Bel Abbès, Tlemcen et Naâma ; Elle est insérée entre l'Atlas tellien au nord et l'Atlas Saharien au sud (**annexe n° 01**).

Cette région est abritée des influences atlantiques par le moyen Atlas Marocain et des influences méditerranéennes par l'Atlas tellien; mais elle est en contact direct avec les influences sahariennes par la présence de certains passages qu'offre l'Atlas Saharien.

I.2 Climat

Les précipitations moyennes annuelles fluctuent selon une fourchette de 150 à 300 mm par an. Le nord des hautes plaines sud Oranaises est plus arrosé par rapport au sud. De même la pluviosité augmente d'ouest en est (gradient longitudinal).

Selon **Nedjraoui(1981)** ce gradient «est dû à deux phénomènes : à l'ouest, la sierra nevada Espagnole et l'Atlas Marocain agissent comme écran et éliminent ainsi l'influence atlantique, à l'est, les fortes précipitations sont attribuées aux perturbations pluvieuses du nord de la Tunisie».

Dans cette zone les pluies sont caractérisées par leur irrégularité spatio-temporelle. Celles-ci sont marquées par l'influence présaharienne et les pluies dépassent rarement les 300 mm par an. Des pluies d'été tombent assez fréquemment sous forme d'averses diluviennes et parfois elles créent des dégâts considérables sur les cultures ainsi que sur les infrastructures des villes. Ces dégâts sont causés par l'intensité de la pluie et par la présence d'un sol qui favorise le ruissellement. Après une averse le ruissellement devient très visible sur les glacis notamment. En effet, une longue période de sécheresse permet la formation d'une mince couche limoneuse au niveau de la partie superficielle du sol appelée «pellicule de glaçage» qui empêche l'infiltration de l'eau dans le sol (**Djebaili, 1984**).

Plusieurs auteurs (**Benabadji et al., 2000 ; Despois, 1955 et Seltzer, 1946**) qui ont travaillé sur ces zones le confirment dans leurs études.

I.3 Sol

Les données géologiques fournissent des indications précieuses sur la nature du substrat où se développe la végétation. Cette dernière répond d'une manière assez fidèle à la nature lithologique et aux formes géomorphologiques.

I.3.1 Sols calcimagnésiques

La classe de sols calcimagnésiques occupe la majeure partie de la zone d'étude. Elle est représentée par plusieurs types de sols : les rendzines, sols bruns calcaires et sols bruns calciques, sols à encroûtement gypseux. Ces sols occupent les glacis du Quaternaire ancien et moyen.

I.3.2 Sols minéraux bruts

Les sols minéraux bruts sont représentés par les sols minéraux bruts d'érosion, les sols minéraux bruts d'apport alluvial et les sols minéraux bruts d'apport éolien.

- Sols minéraux bruts d'érosion : sont situés sur de fortes pentes où les couches superficielles sont constamment entraînées empêchant ainsi la formation du sol. Le couvert végétal est très peu significatif avec toutefois quelques reliques de chêne vert (*Quercus ilex*) et le genévrier oxycèdre (*Juniperus oxycedrus*).
- Sols minéraux bruts d'apport alluvial : Se rencontrent au niveau des oueds importants. Ils présentent une texture sableuse, une forte charge caillouteuse et leur profondeur est variable.
- Sols minéraux bruts d'apport éolien : Ils sont constitués de sable et de dunes plus au moins mobiles. Ces sols sont occupés par une végétation psammophile à *Aristida pungens* et *Arthrophytum scoparium*.

I.3.3 Sols peu évolués

La classe de sols peu évolués est composée par :

- Les sols peu évolués d'érosion sur roche mère dure (calcaire et gré) ou tendre (marnes), présentant une proportion élevée d'éléments grossiers, une forte charge caillouteuse et un faible taux de matière organique (<2%);
- Les sols peu évolués d'apport alluvial occupent particulièrement les zones basses (zone d'épandage, daïa, chenaux d'oued). Ces sols représentent la majeure partie des terres mises en culture.

I.3.4 Sols halomorphes

Ils se localisent au niveau des zones de dépressions (Chott et sebkha) et des zones d'épandage des principaux oueds. Ces sols se développent sur des matériaux alluviaux à texture sablo limoneuse, et ils se repartissent en auréoles autour des chotts et des sebkhas et en

bas des glacis. Leur couvert végétal bien qu'homogène dans l'ensemble varie selon leur degré de salinité et leur taux d'humidité. Quand la salure est trop importante la végétation se compose d'espèces hyper-halophytes (*Halcnemum strobilaceum*). Toutefois, lorsque cette salure diminue on rencontre un couvert végétal halophyte qui se compose de (*Salsola vermiculata*, *Attriplex halimus* et *Suaeda fruticosa*).

I.4 Végétation steppique

Dans les hautes plaines sud oranaises l'aridité du climat ne permet pas le développement d'un couvert végétal capable de protéger la surface du sol. La plus part des espèces, en ce milieu aride, ont acquis des caractéristiques biologiques et morphologiques particulières leurs permettant de surmonter toutes les conditions défavorables du milieu. Malgré le faible taux de recouvrement la végétation steppique constitue une ressource naturelle de grande importance notamment dans la protection du sol contre le phénomène de l'érosion éolienne et dans la structuration des horizons superficiels du sol. Selon **FAO (1960)** toutes éliminations ou dégradation du tapis végétal ou des résidus végétaux qui protègent le sol sont la cause principale de l'érosion éolienne.

La végétation naturelle de la zone d'étude est caractérisée par une physionomie de steppe sauf dans les montagnes où subsistent les restes de forêts primitives abattues par l'homme à base de *Pinus halepensis* et *Juniperus oxycedurs*. En dehors de ces espèces forestières, l'aspect de la steppe change avec le gradient pluviométrique et la nature du sol. La steppe sud Oranaise est dominée par les formations végétales suivantes :

- Steppe à alfa (*Stipa tenacissima*);
- Steppe à armoise blanche (*Artemisia herba-alba*);
- Steppe à sparte (*Lygeum spartum*);
- Steppe à halophytes;
- Steppe à psamophytes

II.1 Description de la zone d'étude

La wilaya de Sidi Bel Abbés borde la partie méridionale occidentale du Tell algérien. Située au nord ouest du pays, elle occupe une position centrale stratégique et s'étend sur environ 15% de l'espace régional, totalisant de ce fait une superficie cadastrale de 915 063 km² (**annexe n° 02**).

Née du premier découpage administratif découlant de l'ordonnance n°74-69 du 02 juillet 74, la wilaya comprenait 6 Daïras regroupant 37 communes. Le nouveau découpage administratif induit par la loi n°84-09 du 01 Février 84 relative à l'organisation territoriale du pays l'actuelle wilaya Sidi Bel Abbés comprenant 52 communes regroupées en 15 daïras. L'espace de la wilaya se distingue par une vocation agro-sylvo-pastorale, de sa représentativité à l'échelle régionale en matière d'occupation du sol, de gestion de l'espace et de l'élevage (**Benabdeli, 2000**).

Les 915.063 hectares du territoire de la wilaya de Sidi Bel Abbés sont actuellement utilisés selon les données cadastrales des services des domaines comme suit :

- 38.9% par l'espace agricole
- 21.4% par l'espace forestier
- 17.1% par l'espace steppique
- 22.05% par l'espace improductif

De part ses particularités climatiques et édaphiques la wilaya devrait s'orienter comme par le passé, vers un développement axé essentiellement sur l'agriculture, l'élevage et la sylviculture. L'importance de ces trois espaces justifie cette option (**Benabdeli, 2000**)

II.2 Méthode d'étude

L'étude ethnobotanique a été réalisée à l'échelle de la ville de Sidi Bel Abbes. Elle a permis de décrire les différentes utilisations de l'armoise blanche par la population locale. Notre enquête, réalisée en janvier- février 2014 sur 428 individus dont 161 hommes et 267 femmes.

Les informations ont été obtenues à travers des entrevues ethnobotaniques avec des personnes nées et/ou ayant vécu longtemps dans la ville de Sidi Bel Abbes.

Cette étude s'est basée sur une fiche d'enquête ethnobotanique (**Annexe n° 03**)

soumise aux enquêtés au cours d'entretiens individuels. Lors de chaque entretien nous avons collecté toute l'information sur l'enquêté y compris son âge et son niveau intellectuel, ainsi que leurs informations sur l'armoise blanche, son usage, la partie utilisée, le mode de préparation et les maladies traitées par la plante.

III.1 Obtention de l'huile essentielle de l'armoise blanche

III.1.1 Echantillonnage

La récolte de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso) a été effectuée en mai 2012 à El Aricha et avril 2013 dans les trois stations : Ras El Ma, El Aricha et Mecheria (**Annexe n° 04**).

Les biomasses prélevées sont séchées sous abris à la température ambiante du laboratoire (25-28°C) durant une dizaine de jours.

III.1.2 Procédés d'extraction et de conservation des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles est réalisée au laboratoire de biodiversité végétale, université de Sidi Bel Abbés. On a utilisé le procédé de l'hydrodistillation : extraction par l'appareil de Soxhlet et un Clevenger bricolé.

Principe de l'extraction

Après séchage de la plante, 100 g de feuilles sont introduits dans le ballon à fond rond avec 700 ml d'eau distillée. Le ballon avec son contenu sera mis sur un chauffe ballon à une température avoisinant les 80°C et raccordé avec le reste de l'appareil d'extraction. Adopter ensuite le ballon à l'appareil de condensation. Laisser le mélange en ébullition pendant 2 à 3 heures. Pendant ce temps, la vapeur se dirige vers le col du cygne puis dans le réfrigèrent ou elle se condense rapidement.

Le distillat obtenu est introduit dans une ampoule à décanter. On ajoute le dichlorométhane et on récupère les phases organiques (**CNDP, 2000**).

On filtre sur Büchner, puis on évapore le solvant à l'évaporateur rotatif avec un ballon préalablement taré.

Enfin, on pèse le produit obtenu afin de pouvoir déterminer ultérieurement le rendement.

Les huiles essentielles ainsi obtenues sont conservées à 4°C dans des tubes en verre hermétiquement fermés à l'abri de la lumière.

III.1.3 Analyse des huiles essentielles de l'armoise blanche

III.1.3.1 Analyse quantitative

- Le rendement

Le rendement en huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal traité (**AFNOR, 1982**).

$$R = (m/m_0) \times 100$$

R : rendement en huile essentielle (%)

m : masse en gramme de l'huiles essentielle

m₀ : masse en gramme de la matière végétale sèche.

III.1.3.2 Analyses qualitatives

La poly-constitution des huiles essentielles rend sa conservation difficile. Les possibilités de dégradation sont nombreuses, facilement objectivées par la mesure des indices (d'acide, deperoxyde, d'ester...), par la détermination des caractères physiques (viscosité, miscibilité à l'alcool, pouvoir rotatoire, densité relative) et/ou par l'analyse infrarouge (IR) et ultraviolette(UV) qui peuvent être utilisées pour le contrôle de la qualité des HE (**Bruneton ; 1999**).

Afin de déterminer la qualité de notre HE, nous avons déterminé un certain nombre de caractères physico-chimiques (**Annexe n°05**).

-Chromatographie en phase gazeuse

L'analyse des huiles essentielles par CPG est effectuée au laboratoire régional de contrôle de la qualité et de la répression des fraudes (CACQE) à Oran.

Les analyses chromatographiques en phase gazeuse ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe de type Perkin Elmer Autosystem GC, équipé d'un injecteur diviseur et de deux colonnes (60m x 0,22 mm d.i ; épaisseur du film : 0,25µm) respectivement polaire (Rtx-Wax, polyéthylèneglycol) et apolaire (Rtx-1, polydiméthyl-siloxane). Le gaz vecteur est L'Azote (33ml/mn).

La température de l'injecteur et celle du détecteur sont de l'ordre de 230°C.

La programmation de la température consiste à une élévation de 50 à 180°C, à 2°C/min, puis un palier de 45 min à 230°C.

La température du four a été programmée comme suit : 50°C pendant 2 min ensuite 130 °C pendant 3 mn puis montée jusqu'à 180°C à raison de 7°C/min.

L'injection se fait par mode split.

La quantité d'huile injectée est de 2 µl en solution diluée dans l'hexane.

Chapitre IV : Etude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de l'armoise blanche

L'étude de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de l'armoise blanche est réalisée au niveau du laboratoire central du CHU de Sidi Bel Abbès, service de parasitologie et mycologie.

IV.1 Microorganismes utilisés

L'activité antimicrobienne est testée sur six microorganismes :

- Deux bactéries Gram - : *Escherichia coli* et *Bacillus proteus*
- Deux bactéries Gram + : *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*
- Deux champignons : *Candida parapsilosus* et *Aspergillus Niger*

IV.2 Préparation des cultures

L'analyse microbiologique a pour principe de mettre à chaque fois une souche microbienne en contact avec l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso à différentes concentrations.

L'ensemencement se fait par stries à l'aide d'une anse de platine calibrée afin de prélever le même volume d'inoculum. Ce dernier se présente sous forme de bouillon de culture de 24 h pour les bactéries et sous forme d'une suspension dans l'eau physiologique de spores provenant d'une culture de 7 j dans le PDA pour les moisissures. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et à 25 °C pendant 7 j pour les champignons.

L'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso est émulsionnée dans le Tween 80 (V/V) et à différentes concentrations (0% ; 25%, 50%, 75% et 100%) puis introduit sur des disques et ce dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive.

Chaque essai est répété trois fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

Après incubation à 37°C pendant 24 heures la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition en mm.

IV.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice

Afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), on a suivi les mêmes étapes que pour l'évaluation de l'activité antibactérienne, en variant les concentrations de l'huile essentielle dans le milieu gélosé.

La CMI correspond donc à la plus faible concentration d'huile essentielle à laquelle on n'observe pas de croissance visible.

L'information ethnobotanique rassemblée a été inscrite sur des fiches de données brutes puis transférée dans une base de données, traitée et analysée pour obtenir des données standardisées portant sur les aspects suivants :

- fréquence d'utilisation de l'armoise blanche dans la région ;
- usages attribués à la plante ;
- parties utilisées de la plante;
- modes de préparation les plus communément mentionnés.

I.1 Fréquence d'utilisation des plantes médicinales selon le profil des enquêtés

I.1.1 Classes d'âge

Le traitement des données a permis d'obtenir le graphique de la figure n°09. Elle montre qu'à l'échelle de la ville de Sidi Bel Abbes, les personnes dont l'intervalle d'âge entre 30 et 45 ans ont une fréquence d'utilisation de l'armoise blanche de 39 %. Ils viennent ensuite les tranches d'âge [46 -60], [18 -29], et enfin celle de 60 ans et plus avec respectivement 29 %, 26% et 6 %.

La connaissance des usages des plantes médicinales et leurs propriétés sont généralement acquise suite à une longue expérience accumulée et transmise d'une génération à l'autre. La transmission de cette connaissance est en danger actuellement parce qu'elle n'est pas toujours assurée (**Anyinam, 1995**).

Les résultats obtenus montrent effectivement que les personnes les plus âgées ont plus des connaissances en plantes médicinales par rapport aux autres classes d'âges. L'expérience accumulée avec l'âge constitue la principale source d'information à l'échelle locale au sujet de l'usage des plantes en médecine traditionnelle. Il faut signaler que le pourcentage de 6% dans la tranche d'âge de 60 ans et plus est en relation avec le nombre faible des personnes interrogées qui est de 24 individus.

On note aussi une perte d'informations sur les plantes médicinales, ce qui s'explique par la méfiance de certaines personnes, qui ont tendance à ne plus croire en cette médecine traditionnelle.

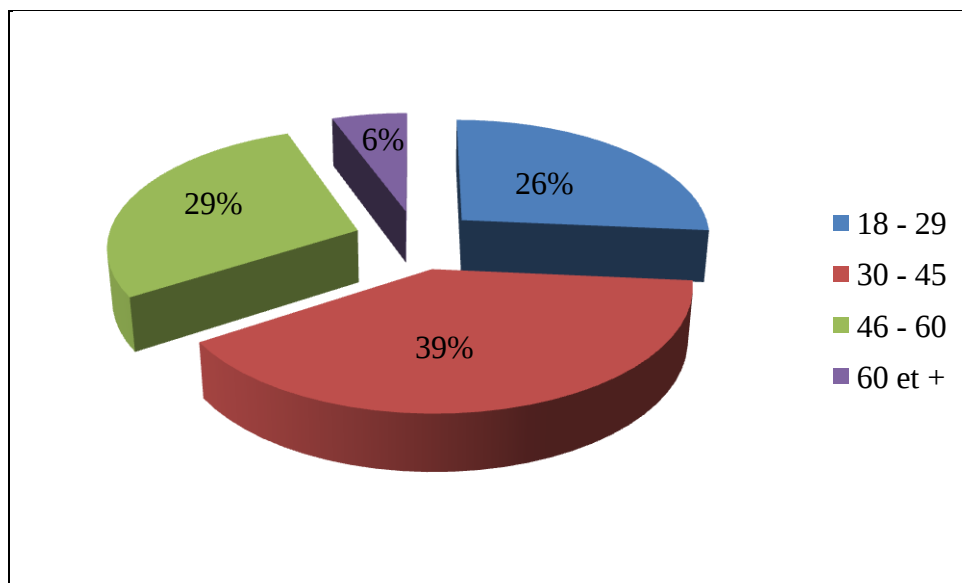


Figure n°09 : Répartition de la fréquence d'utilisation de l'armoise blanche par classes d'âge dans la ville de Sidi Bel Abbès.

I.1.2 Sexe d'appartenance

Dans la ville de Sidi Bel Abbès, les hommes et les femmes sont concernés par la médecine traditionnelle. Cependant, les femmes ont un peu plus de connaissances sur l'armoise blanche par rapport aux hommes (62 % contre 38 %) (**Figure n°10**). Ces résultats confirment les résultats d'autres travaux ethnobotaniques réalisés à l'échelle nationale, qui ont montré que les femmes sont plus détentrices du savoir phytothérapique traditionnel que les hommes (Mehdioui et Kahouadji ; 2007).

Généralement la collecte des plantes médicinales est réservée à l'homme tandis que le séchage, le stockage et la préparation des recettes pour les soins des membres de la famille sont effectués par les femmes.

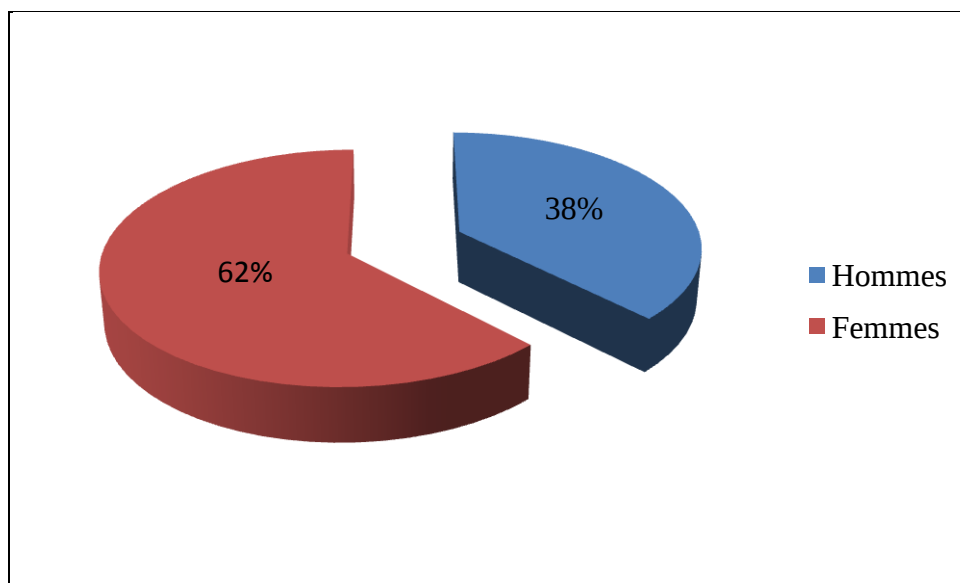


Figure n° 10 : Répartition de la fréquence d'utilisation de l'armoise blanche par sexe dans la ville de Sidi Bel Abbès.

I.1.3 Niveau intellectuel

Dans la zone d'étude, la grande majorité des usagers de l'armoise blanche sont les universitaires, avec un pourcentage de 40 % (**Figure n°11**). Ce pourcentage relativement élevé est en corrélation directe avec le niveau d'études de la population locale utilisatrice des plantes. Néanmoins, les personnes analphabètes ont un pourcentage d'utilisation non négligeable des plantes médicinales qui est de 29 %, alors que celles ayant un niveau d'études secondaires et moyennes, utilisent très peu les plantes médicinales (secondaire 16 %, moyennes 15 %). On remarque que la tranche d'âge des plus jeunes commence ces dernières années à s'intéresser aux plantes médicinales.

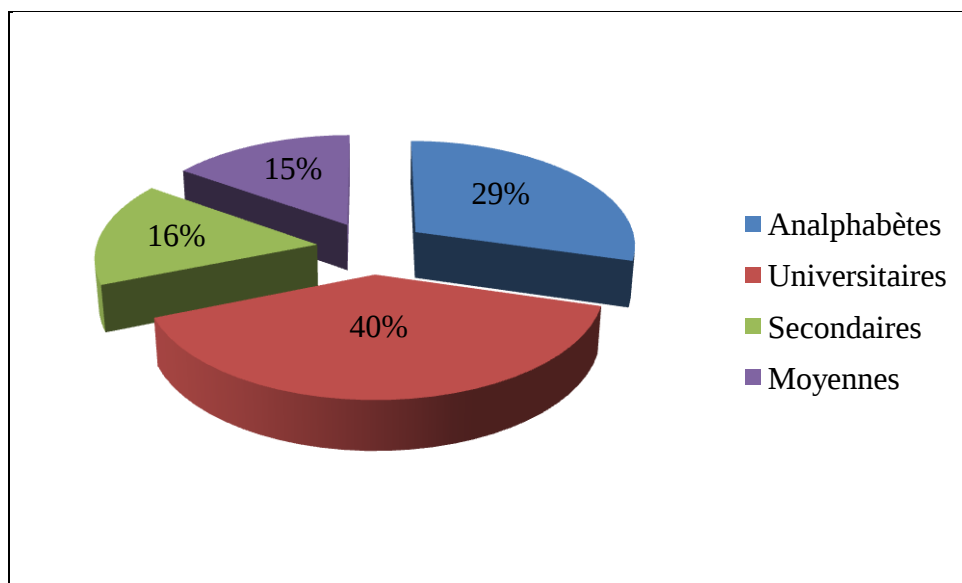


Figure n°11 : Répartition de la fréquence d'utilisation de l'armoise blanche selon le niveau d'étude dans la ville de Sidi Bel Abbès.

I.1.4 Domaines d'indication thérapeutique

Ce travail, qui contribue à une meilleure connaissance des soins traditionnels pratiqués dans la ville de Sidi Bel Abbès, a permis de répertorier un certain nombre de maladies traitées par l'armoise blanche. Les résultats obtenus ont révélé qu'elle est utilisée principalement contre les maladies de la sphère ORL, avec un pourcentage de 36%, suivies des maladies du système nerveux (31%), de l'appareil pulmonaire haut et bas (17%) et enfin les maladies du tube digestif (16%) (**Figure n°12**).

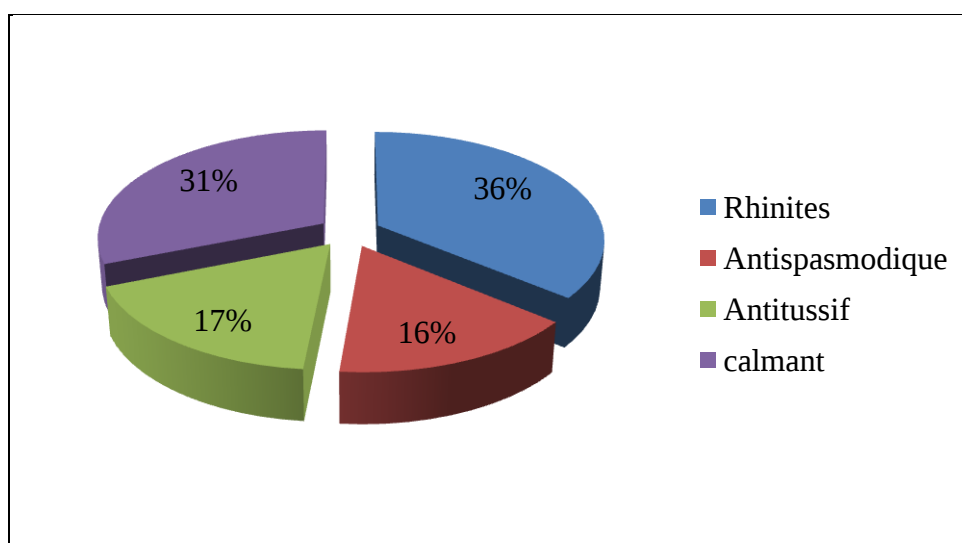


Figure n°12: Répartition des différentes utilisations de l'armoise blanche dans la ville de Sidi Bel Abbès.

I.1.5 Parties utilisées

Dans la zone d'étude, les feuilles sont les parties les plus utilisées avec un pourcentage de 75%, viennent ensuite les tiges (25%) ; les fleurs et les fruits ne sont pas pratiquement utilisées selon notre enquête.

La fréquence d'utilisation élevée des feuilles peut être expliquée par l'aisance et la rapidité de la récolte (**Bitsindou, 1986**) mais aussi par le fait qu'elles sont le siège de la photosynthèse et parfois du stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés biologiques de la plante (**Bigendako-Polygenis., Lejoly, 1990**).

Bien que la **figure n°13** montre que l'utilisation des feuilles est plus fréquente par rapport aux autres parties, on a remarqué que sur le terrain les utilisateurs ont tendance à arracher la plante entière au lieu de s'intéresser uniquement à la partie souhaitée. Sachant qu'il existe une relation manifeste entre la partie utilisée de la plante exploitée et les effets de cette exploitation sur son existence (**Cunningham, 1996**). Ce mode de cueillette compromet sérieusement la durabilité des espèces médicinales.

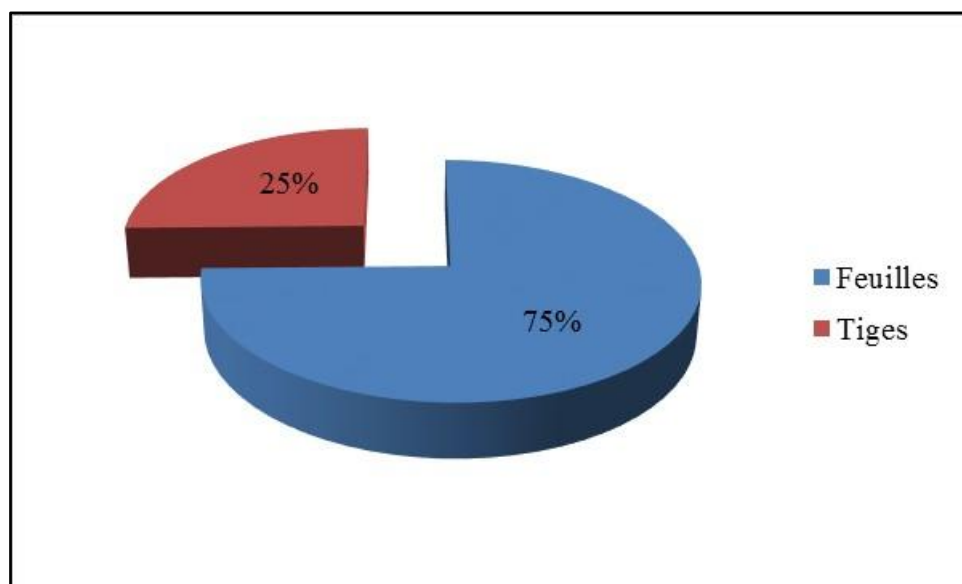


Figure n°13 : Répartition des différentes parties utilisées de l'armoise blanche dans la ville de Sidi Bel Abbès.

I.1.6 Mode de préparation

Afin de faciliter l'administration de la drogue, plusieurs modes de préparation sont employés à savoir la décoction et l'infusion. Les utilisateurs cherchent toujours la méthode la plus simple pour préparer les phytomédicaments.

L'infusion constitue le mode de préparation le plus fréquent (56 %) ; elle est suivie par la décoction (39 %). Le reste de la population (5%) ont déclaré que l'armoise blanche est utilisée dans l'alimentation de bétails.

L'infusion permet de recueillir le plus de principes actifs et atténue ou annule l'effet toxique de certaines recettes.

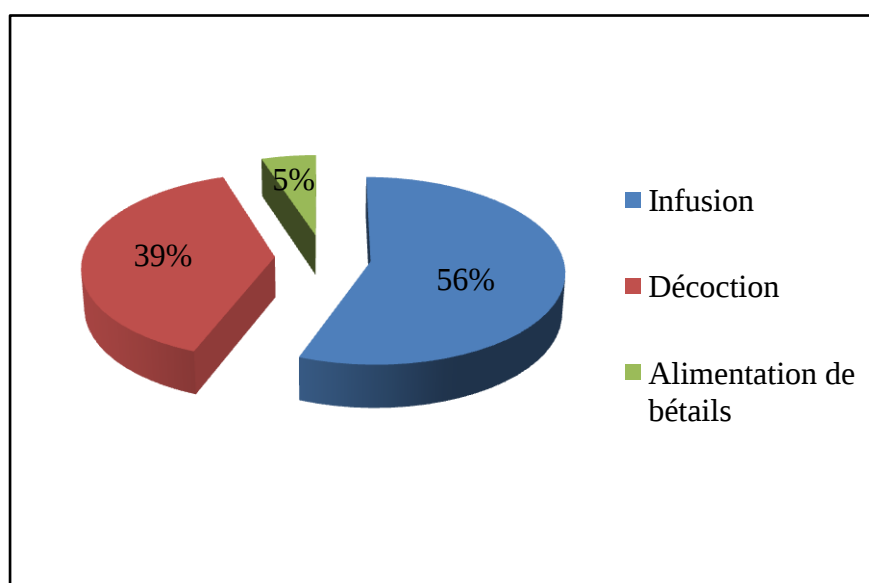


Figure n°14 : Répartition des différents modes de préparation de l'armoise blanche dans la ville de Sidi Bel Abbès.

II.1 Caractérisation de l'huile essentielle de l'armoise blanche

II.1.1 Rendement en huiles essentielles

L'huile essentielle de l'armoise blanche est de couleur marron et d'odeur très forte.

La valeur du rendement moyen par rapport à la matière végétale sèche de l'huile essentielle de l'armoise blanche de chacune des trois stations (Ras El Ma, El Aricha et Mecheria) est représenté dans la **figure n°15**.

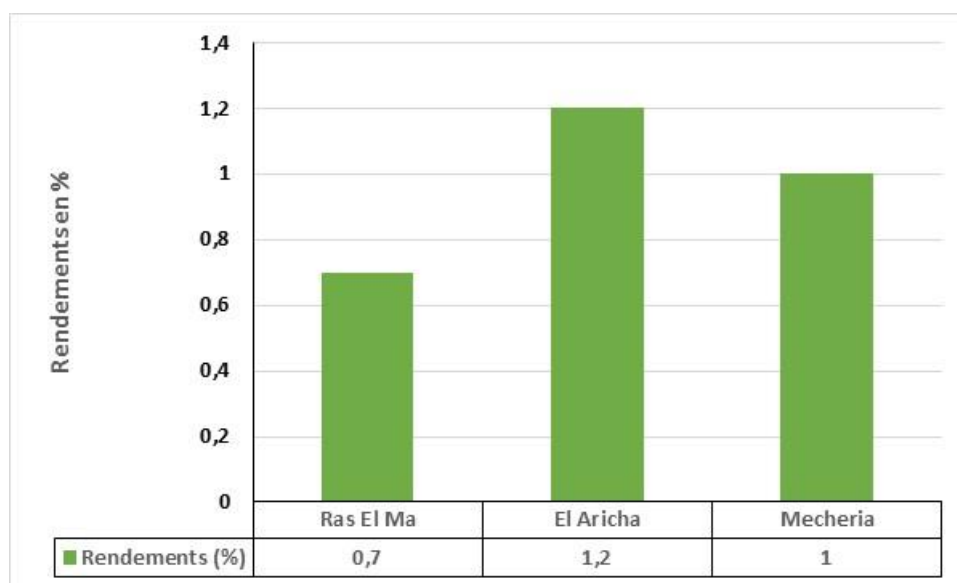


Figure n°15 : rendement en huiles essentielles de l'armoise blanche des trois stations

Le rendement moyen obtenu des huiles essentielles extraites de la plante *Artemisia herba-alba* étudiée dans les trois localités varie selon la station.

El Aricha et Mecheria présentent les plus forts rendements qui sont respectivement de l'ordre de (1,2 % et 1%).

Le taux de rendement enregistré dans la station d'El Aricha est relativement supérieur à celui des HE extraites de la même espèce récoltée dans la région de Matmata en Tunisie (0,65%) (**Akrout, 2004**), de Biskra (0,95%) (**Bezza et al. 2010**) et de M'sila (1,02%) (**Dob et Benabdelkader, 2006**). Il est sensiblement inférieur à celui de la Jordanie (1,3%) (**Hudaiba et Aburjai, 2006**). Par contre, le taux de rendement des HE de l'espèce *Artemisia herba-alba* varie en fonction de la période de récolte dans la région du Guerçif au Maroc ; il est entre 0,56% et 1,23% (**Ghanmi et al., 2010**) ; en Espagne, il varie selon les provenances, de 0,41% à 2,30% (**Salido et al., 2004**).

La station de Ras El Ma fournit le rendement le plus faible (0,7%) ; ceci est dû probablement aux conditions du milieu.

Le plus haut pourcentage d'huile essentielle est enregistré chez *Artemisia cana* (1,3 %) et *Artemisia frigida* (1,5 %). Par contre, le rendement de la partie aérienne d'*Artemisia absinthium*, *Artemisia biennis*, *Artemisia dracunculus*, *Artemisia longifolia* et *Artemisia ludoviciana*, compris entre (0,3 % et 0,5 %) (**Lopes-Lutz, 2008**), est inférieur à celui d'*Artemisia herba-alba*

Cette différence en rendement entre les armoises peut être attribué à de nombreux facteurs : stade de croissance, conditions pédoclimatiques et édaphiques de la région, technique d'extraction, etc (**Fellah, 2006**).

II.1.2 Analyses qualitatives de l'huile essentielle de l'armoise blanche

Les caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* des trois stations sont regroupées dans le tableau n°03:

Tableau n° 03 : Présentation des analyses qualitatives de l'huile essentielle (HE) de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*)

HE Indice	HE de la station de Ras El Ma	HE de la station d'El Aricha	HE de la station de Mecheria
Densité relative à 20%	0.9	0.84	0.88
Miscibilité à l'éthanol	1v /3v	1v /3v	1v /3v
Ph	6,80 (à 18.9°C)	6.82 (à 18.9°C)	6.82 (à 18.9°C)
Salinité	0	0	0
T. D. S	15 mg/l	15 mg/l	15 mg/l
Conductivité	28.76. 10 ⁻²	28.76. 10 ⁻²	28.76. 10 ⁻²
Résistance	34769,23 Ω	34769,23 Ω	34769,23 Ω
Point de congélation	-18	-18	-18
Indice d'acide	0,5	0,5	0,48

L'huile essentielle de l'armoise blanche des trois localités ne présente pas de grandes différences vis-à-vis leurs propriétés physico-chimiques.

Les propriétés physico-chimiques tels que : le pouvoir rotatoire, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice d'ester,.... etc, constituent un moyen de

vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle (**Afssaps, 2008**). Ces essais sont déterminés selon un protocole précis et obéissent à des normes édictées par l'association française de normalisation (A.F.N.O.R) (**Afnor, 1989**).

Les résultats obtenus des analyses physicochimiques indiquent que les échantillons analysés se trouvent dans les fourchettes de référence établies par les normes AFNOR (**Mouchem et al., 2015**). Selon **Gilod (2006)**, ces paramètres sont influencés par les conditions édaphiques et climatiques ainsi que les conditions de cultures des plantes ; cela fait partie aussi de la complexité de la notion de chémotype.

La densité est parmi les caractéristiques physiques généralement utilisées dans la classification des huiles essentielles. Mais elle ne peut pas être utilisée seule pour l'identification des huiles. Les résultats obtenus sont conforme à la norme AFNOR.

Le point de congélation de notre huile est de -18 ce qui est à l'intervalle fixé des normes française NFT 75- 222 qui est de -15°C à -19°C selon **AFNOR 2000**.

Un indice d'acide inférieur à deux, est une preuve de bonne conservation de l'huile. En effet, une huile fraîche ne contient que très peu d'acides libres. C'est pendant la période de stockage que l'huile peut subir des dégradations telle l'hydrolyse des esters. **Lazouni et al. (2007)**, constatent des variations des indices d'acide et d'ester au cours du temps et en fonction de la température.

La détermination des propriétés physico-chimiques est une étape nécessaire mais non suffisante pour caractériser les huiles essentielles. Il est donc nécessaire de la compléter par des analyses chromatographiques. Ces dernières sont souvent utilisées comme moyen analytique complémentaire pour l'analyse structurale des substances volatiles, elles ont été employées pour identifier qualitativement les huiles essentielles.

Données chromatographiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche

L'analyse de l'huile essentielle par CPG, brute obtenue par hydrodistillation des parties aériennes d'*Artemisia herba-alba* des trois stations est représentée dans la figure n°16.

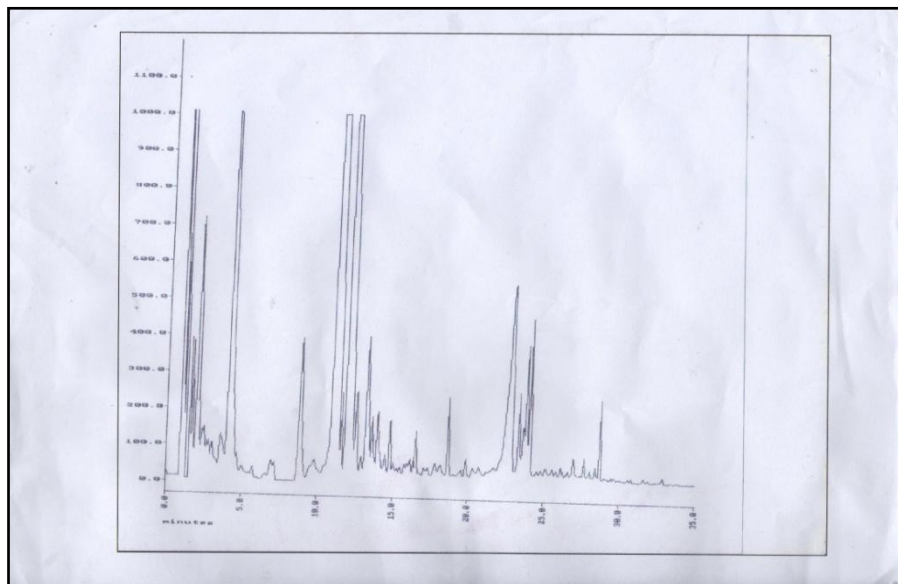


Figure n°16 : chromatogramme de l'huile essentielle de l'armoise blanche

L'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse pour déterminer les composants de l'huile essentielle de l'Armoise Blanche a permis de révéler 36 pics chaque pic désigne un composé contenu dans l'Huile Essentielle d' *Artemisia herba-alba*.

Cette technique de séparation se base essentiellement sur la différence dans la température d'ébullition des différents constituants du mélange (l'huile essentielle), le composé qui a la température d'ébullition la plus basse sort en premier lieu.

D'après le chromatogramme, nous avons remarqué une dominance de trois composés, vu l'intensité et l'aire de leurs pic (**Mouchem, 2009**). Parmi ces composés on a :

Hexa- 3-en-1-ol, santolinatriène, tricyclène, a- thujène, a- pinène, camphène, sabinène, b- pinène, myrcène, a- terpinène, 1-8 cinéol, g- terpinène, tr- sabinène hydrate, a- thujone, b- thujone, chrysanthénone, camphre, lyratol, terpinène 4- ol, a- terpinéol, carvone, thymol, acétate de bornyl.

L'huile essentielle de l'armoise blanche est connue par sa composition riche en monoterpénoides, surtout oxygénés.

Des observations similaires ont été faites par **Paolini et al., (2010)** avec 16 échantillons de l'Est Marocain, dont le chrysanthénone, le camphre, L' α - et le β -thujone sont des composés majoritaires.

Des résultats relativement différents ont été obtenus par certains auteurs, notamment **Benjilali et Richard (1980)**. Ces derniers, en travaillant sur 48 plantes du Haut et Moyen Atlas ont montré la dominance du camphre (>50%) dans 18 échantillons de la région de Souss. Le camphre et l' α -thujone (30% et 40% respectivement) sont des composés majoritaires dans 18 spécimens de Marrakech. Cependant, le chrysanthénone était absent dans l'ensemble des échantillons analysés par ces chercheurs. En outre, **Dahmani-Hamzaoui et Baaliouamer (2010)** ont mis en exergue le camphre (49,3%) dans les Huiles Essentielles du nord du Sahara Algérien. Le chrysanthénone (3,2%) demeurant mineur dans ces extraits.

Toutefois, certains éléments chimiques secondaires ont été décrits par d'autres chercheurs comme composés majoritaires des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*. C'est le cas de l' α -thujone, principal constituant des Huiles essentielles E extraites par **Ouyahya et al., (1990)** et de celles obtenues par **Kadri et al., (2011)** à Bir Elhfay en Tunisie et du davanone souligné par **Benjilali et al., (1982)** et **Salido et al., (2001)**.

Le cis-chrysanthénylacétate est considéré comme le constituant le plus abondant des Huiles Essentielles de Biskra en Algérie (**Bezza et al., 2010**). Le pinocarvone (38,8%) de Tataouine en Tunisie et le 1,8-cinéole, l'un des constituants les plus communs des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, notamment celles de l'Egypte (**El-Sayed et Seida 1990**), de l'Algérie (**Boutekdjiret et al., 1992 ; Vernin et al., 1995 ; Dahmani-Hamzaoui et Baaliouamer 2010**), de la Tunisie (**Haouari et Ferchichi, 2009 ; Mighri et al., 2010 ; Kadri et al., 2011**).

Cette différence de composition chimique peut être un indicateur pour différencier entre deux espèces voisines qui abondent à la même hauteur altitudinale (**Ouyahya, 1990**).

Il semble que l'espèce *A. herba-alba* soit caractérisée par une variabilité intra-spécifique importante dans le profil chimique de ses huiles essentielles. Ainsi, les chimiotypes à α -thujone-camphre (**Benjilali et Richard, 1980**), à camphre, à thujone (**Benjilali et Richard, 1980 ; Salido et al., 2004 ; Paolini et al., 2010**), à chrysanthénone (**Paolini et al., 2010**), à davanone (**Benjilali et al., 1982 ; Salido et al., 2004**) et au cis-chrysanthényl acétate (**Salido et al., 2004**) sont décrits au Maroc ; ceux à 1,8-cinéole et au cis-chrysanthénol en Egypte ; le chrysanthénone (**Vernin et al., 1995**) en Algérie. Le camphre se trouve dans les

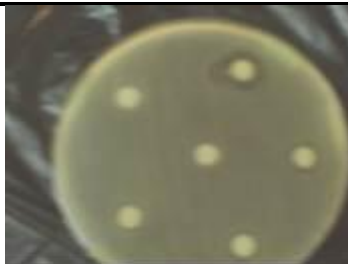
armoises des quatre pays : Maroc, Égypte, Algérie et Espagne. Les chimiotypes à davanone, au 1,8-cinéole, au chrysanthénone, au cis-chrysanthénol et au cis-chrysanthényl acétate sont présents dans d'autres zones méditerranéennes (**Salido et al., 2004 ; Hurabielle et al., 1981**).

La variabilité intra-spécifique existante au sein de l'espèce *A. herba-alba* peut être d'origine géographique, génétique (**Karousou et al., 2005 ; El Ajjouri et al., 2008**), saisonnière (**Ghanmi et al., 2010**) ou même écologique (sol, humidité, etc.).

III.1 Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'armoise blanche

Les huiles essentielles de l'armoise blanche de la station d'El Aricha, extraites en mai 2012, sont testées sur *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Escherichia coli* (5044172). Les résultats sont consignés dans le **tableau n° 04**.

Tableau n°04 : résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (HE) de l'armoise blanche de la station d'El Aricha (Algérie occidentale)

Concentration de HE (%)	Diamètre d'inhibition (mm)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Witness (Tween 80)	0	0	0
100%	9	10	6
75%	3	2	2
50%	2	2	1,5
25%	1	1	1
			

Légende :

HE : huile essentielle,

- bactérie à Gram (-) : *Escherichia coli*

- Deux bactéries à Gram (+) : *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*

L'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* de la station d'El Aricha a présenté une activité antimicrobienne contre toutes les souches testées en dépit de leur morphologie et de leur Gram. La concentration de l'huile essentielle de 25% v/v, était suffisante pour arrêter la croissance des souches testées (**Mouchem et al., 2015**).

Le **tableau n° 05** montre les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle de l'armoise blanche des trois stations d'étude.

Tableau n°05 : résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'armoise blanche des trois stations (Ras El Ma, El Aricha et Mecheria) de l'Algérie occidentale.

	Dilutions														
	100%			75%			50%			25%			T		
	H _R	H _A	H _M	H _R	H _A	H _M	H _R	H _A	H _M	H _R	H _A	H _M	H _R	H _A	H _M
<u>Bactéries</u>															
<i>E coli</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
<i>B subtilis</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>B proteus</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	+	+	+
<i>St aureus</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<u>Champignons</u>															
<i>Aspergillus N</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
<i>Candida P</i>	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Légende :

- inhibition

+ croissance

H_R : Huile essentielle de l'armoise blanche de la station de Ras El Ma

H_A: Huile essentielle de l'armoise blanche de la station d'El Aricha

H_M: Huile essentielle de l'armoise blanche de la station de Mecheria

L'huile essentielle *d'Artemisia herba-alba* exhibe une activité antimicrobienne contre toutes les souches testées en dépit de leur morphologie et de leur Gram (**Figure n°17**).

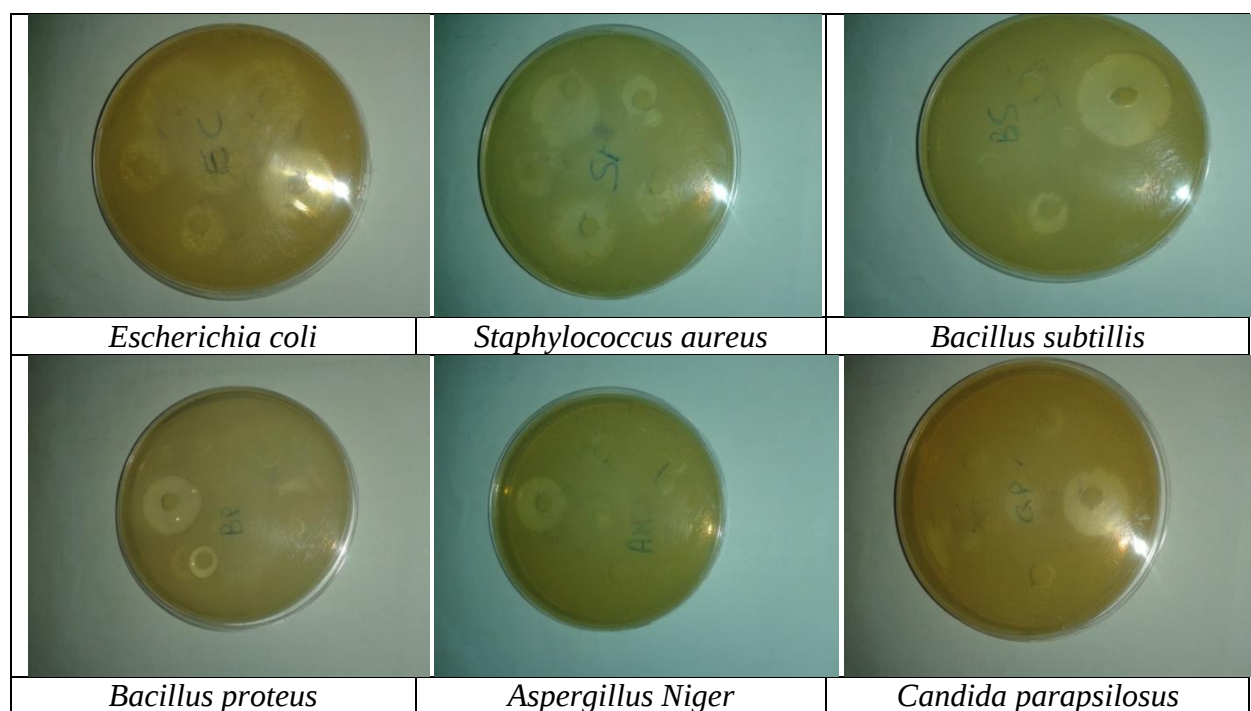


Figure n°17 : résultats des aromatoigrammes de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*

Les seuils de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de l'armoise blanche se situent à la concentration de 25%. Ceux de l'activité antifongique sont entre 50% et 25% v/v. Les bactéries étaient donc plus vulnérables à l'essence de l'armoise blanche que les champignons.

L'HE d'*Artemisia herba-alba* montre une activité fongitoxique contre toutes les moisissures testées.

Aspergillus niger a manifesté un degré d'inhibition plus élevé que *Candida parapsilosis*.

En contre partie, pour les bactéries, la concentration de 25% a été suffisante pour arrêter la croissance de *Bacillus subtilis*(Gram +) qui s'est montré le plus vulnérable à cette HE, suivi du *Staphylococcus aureus* (Gram +) tandis que *Escherichia coli* (Gram -) et *Bacillus proteus*(Gram -) ont été plus résistantes.

Plusieurs chercheurs ont rapporté l'effet antimicrobien (Sivropoulou et al., 1995 ;Sivropoulou et al., 1997 ; Cowan, 1999 ; Mau, 2001 ; Hoffman, 2004) et antifongique (Muller-Riebau et al., 1995; Adam et al., 1998; Moretti et al., 1998; Deferera et al. 2000 ;Sridhar et al., 2003; Rakotonirainy et Lavedrine, 2005) des huiles essentielles dans l'application agroalimentaire, la recherche pharmaceutique et dans d'autres domaines.

D'autres chercheurs ont spécifiquement noté la forte activité sur les champignons filamenteux, les protozoaires et les mites en comparaison de celle qui est exercée vis-à-vis des bactéries et levures (**Inouye et ABE, 2007**).

Plusieurs composés sont souvent cités comme responsables des propriétés antiseptiques des huiles essentielles: le thymol, le carvacrol, le cinnamaldéhyde, l'eugénol, le 1,8-cinéole, le camphre et les thujones(**Hubert, 2008**).

Ces résultats ont été confirmés dans le présent travail où une bonne activité a été témoignée contre les moisissures et les bactéries. D'autre part, Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) (**Billerbeck et al., 2001 ; Bouzouita et al., 2005**). Néanmoins, Certaines études révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries Gram (+) ou Gram (-) (**Guesmi et Boudabous, 2006**).

La présence d'une teneur importante de monoterpènes oxygénés (thujones, camphène, camphre et 1,8-cinéole) dans l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* peut être responsable de son activité prononcée contre *Staphylococcus aureus* et sa haute activité contre *Bacillus subtilis*. En effet. Il a été démontré que le *Staphylococcus aureus* est le plus affecté par les monoterpènes cétones comme les thujones (**Dorman, 2000, Oussalah, 2007**). Ceci indique que la présence d'une fonction oxygène dans la structure augmente les propriétés bactériostatique et fongistatique des terpénoïdes.

Des études antécédentes ont démontré que la majorité des HE testées pour leur propriétés antibactériennes ont un effet plus prononcé contre les Gram +. La résistance des Gram – est attribuée à leur membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible (**Wan, 1998**). L'action relative des thujones et de 1,8-cinéole a été associée à leur basse hydrosolubilité et la capacité de former des liaisons hydrogènes, ce qui limite leur entrée dans les Gram – qui possèdent des voies hydrophobes inopérantes dans la membrane externe (**Faleiro, 2003**).

La présence de β -thujone dans l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* lui confère une forte propriété antiseptique en plus d'autres caractéristiques physiologiques; elle est abortive, antibactérienne, emménagogue, insecticide et larvicide (**Duke, 1998**).

En complément à cela, d'autres composés de cette huile ont des activités biologiques intéressantes. Le camphre, par exemple, présente une activité antibactérienne, antidysentérique et aussi fongicide (**Tantaoui-Elaraki, 1993**). La présence du camphre pourrait être potentiellement une raison de l'hypersensibilité microbienne envers l'HE d'*Artemisia herba-alba* (**Tabanca, 2001**).

Cette activité antibactérienne des HE pourrait être expliquée par l'interaction moléculaire des groupements fonctionnels des composants des HE avec la paroi des bactéries ce qui provoque de profondes lésions. On peut conclure donc que cette activité peut être le résultat d'un effet synergique entre plusieurs composés de cette HE (**Felice et al, 2004**).

Conclusion générale

Il existe dans la nature de ressources insoupçonnées qui seront les solutions de demain, et c'est l'affaire de tous de les préserver.

Notre travail fait partie d'un long et important axe de recherche dont le but est de valoriser davantage nos ressources locales, notamment l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales dans plusieurs domaines. Dans cet axe, nous constituons le travail sur l'une des plantes aromatiques utilisées, c'est l'armoise blanche qui a révélé des atouts et des caractéristiques assez intéressantes.

La série d'enquêtes ethnobotaniques menées sur l'armoise blanche a permis de révéler une multitude de résultats. Les résultats obtenus montrent que le feuillage constitue la partie la plus utilisée, l'infusion est la forme galénique la plus pratiquée. De même, sur l'ensemble des maladies traitées, les affections O.R.L représentent les maladies les plus citées.

En outre, cette étude a permis d'apprécier et de connaître les pratiques traditionnelles utilisées par la population de la ville de Sidi Bel Abbès. La richesse de ce savoir-faire apparaît à travers les résultats obtenus mais il est important, d'une part d'étendre ce genre d'investigations à d'autres régions du pays afin de sauvegarder ce patrimoine culturel précieux par une monographie la plus complète possible; et d'autre part valider expérimentalement les remèdes recensés par des protocoles scientifiques rigoureux.

Les rendements en huiles essentielles de l'armoise blanche sont importants comparés avec des rendements d'autres régions.

Le contrôle de l'huile essentielle de l'armoise blanche par les caractères physiques et chimiques permet de mettre en évidence la qualité de cette huile, se distingue par un indice d'acide et des propriétés comparable à ceux obtenues par la littérature concernant les huiles essentielles d'une façon générale.

Ces résultats ont permis de s'assurer de la pureté de cette huile essentielle. La bonne miscibilité de l'huile essentielle de l'armoise blanche montre la possibilité de l'utiliser dans les préparations pharmaceutiques.

L'huile essentielle de l'armoise blanche présente un effet antimicrobien intéressant contre toutes les souches testées.

Cette modeste étude montre que la flore algérienne est encore riche et prometteuse dans le domaine des produits naturels. C'est une contribution dans la mise en valeur de la flore algérienne méconnue jusqu'à ce jour.

Abderrahim El Haib., 2011. Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques Thèse de doctorat. Université de Toulouse. 158 p.

Abrassart J.L., 2001. Aromathérapie essentielle (huiles essentielles et parfums pour le corps et l'âme). Guy Trédaniel Editeur – FLORILAB.

Acquaronne, L., Corticchiato, M., Ramazotti, J., Raoul, J.L. ,1998. "Growing of *Monarda fistulosa* in France and getting of essential oils by hydrodiffusion." *Rivista Italiana* 761-765.

Adam K., A. Sivropoulou., S. Kokkini., T. Lanaras., M. Arsenakis., 1998. 'Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia* and *Salvia fruticosa* essential oil against human pathogenic fungi," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**, 1739–1745.

AFNOR, 2000. Huiles essentielles. Échantillonnage et méthodes d'analyse (tome 1) – Monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2. volumes 1 et 2) mars.

AFNOR., 1989. Huiles essentielles. Recueil des normes Françaises, 3ème édition, Paris.

AFNOR., 2011. . NF T 75-006 Université Paul Sabatier .Paris.

Ahmed Akrouit., Hajer El Jani., Sondes Amouri., Mohamed Neffati., 2010. *Recent Research in Science and Technology 2010* Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* l., *Artemisia herba alba* asso, & *thymus capitatus* hoff. et link. Growing wild in the southern of Tunisia *Rec Res Sci Tech* **2** (2010) 29-39.

Ahmed, A.A., Abou El-Ela, M., Jakupovic, J., Seif El-Din, A.A., Sabri, N. 1990. *Phytochemistry* (), 29, 3661–3663.

AidoudA., 1989. Les écosystèmes Armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso). II: Phytomasse et productivité primaire. *Biocénoses*, 1-2 : 70-90.

Akrout A, 2004. Essential oil study of some pastoral plants from Matmata (south Tunisia) [in French]. *Cah. Options. Med.* 62: 289-292.

Allegrini J., Simmeon de Buochberg M., Billot A., 1973. Emulsions d'huiles essentielles, fabrication et application en microbiologie. Travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier, 33 : 73-86.

Anyinam C., 1995. Ecology and ethnomedicine. Exploring links between current environmental crisis and indigenous medical practices. *Social Science and Medicine*, 4, 321-329.

Arpino, P., Prévôt, A., Serpinet, J., Tranchant, J., Vergnol, A. et Witier, P., 1995. "Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse." *Ed. Masson, Paris.*

Arras G., Usai M., 2001. Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest Citrus pathogens: chemical analysis of Thymus capitatus oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. *J. Food Prot.*, 64, 1025-1029.

Ausloos P., 2002. Les huiles essentielles : de l'histoire à l'industrie. Ed. Aromalves,

Ayad Nadéra., 2007. Etude écophytochimique et apport nutritionnel de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso) du sud oranais, dans l'alimentation du cheptel. Thèse de doctorat. Faculté de Sidi Bel Abbès.

Azevedo N.R., Campos I.F., Fereira H.D., Prtes T.A., Santos S.C., Seraphin J.C., Paula J.R., Ferri P.H., 2001. Chemical variability in the essential oil of *Hyptis Suaveolens*. *Phytochemistry* ; 57(5) : 733-736.

Bakkali F., 2007. Biological effects of essential oils – A review, *Food. Chem., Toxicol.*,

Bandoniene, D., Pukalskas, A., Venskutonis, P.R., Gruzdiene, D., 2000. "Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil." *FoodResearch International*, 33: 785-791.

Banquour N., 1984. Etude de l'effet de thym (decoction) et de son huile essentielle sur l'évolution de la flore microbienne et quelques paramètres chimiques du Smen, au cours de son élaboration. Thèse de doctorat de 3ème cycle en microbiologie. University Cadi Ayad, faculté des Sciences, Marrakech.

Beens, J.,Brinkman., U.A.T.,2005. "Comprehensive two-dimensional gas

Bekele A.J., Obeng-Ofori D., Hassanali A., 1996. Evaluation of *Ocimum suave* (Willd) as a source of repellents, toxicants and protectants in storage against three stored product insects. *International Journal of Pest Management*, 42 (2) : 139-142.

Belaiche P., 1979. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1, l'aromatogramme. P 137-147. Maloine S.A. Editeur, Paris.

Benabadji N., BouazzaM, 2000.Contribution à une étude bioclimatique de lasteppe à Artémisia herba-alba Asso. Dans l'Oranie (Algérie occidentale). *Sécheresse* (Paris), vol.11, no 2, pp.117-123.

Benabdeli K., 2000. Evaluation de l'impact des nouveaux modes d'élevages sur l'espace et l'environnement steppique. Commune de Ras El Ma (Sidi Bel Abbés, Algérie). Rev. Opt. Médit. Ser. A, n°39, pp 129-141.

Bendahou M., 1991. Contribution à l'étude de la variabilité flavonique chez *Artemisiaherba alba* Asso. Mémoire de magister, faculté Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 73p.

Bendahou Mourad., 2007. Composition chimique et propriétés biologiques des extraitsde quelques plantes aromatiques et médicinales de l'ouest algérien. Thèse de doctorat d'Etat, faculté Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.

Bendeddouche Souria., 2015. Etude écologique de *Rosmarinus tournefortii* De Noé de la région de Sidi Bel Abbès et valorisation de ses composés phytochimiques.

Benjilali B, Richard H, 1980. Etude de quelques peuplements d'Armoise blanche du Maroc *Artemisia herba alba*. Riv. Ital. E.P.P.O.S., 12, 2, 69-74.

Benjilali B., Sarris J., Richard H., 1982. Nouveaux chimiotypes d'*Artemisia herba-alba*. Sci. Aliment, 2, 515-527.

Benjilali B., Tantaoui – El Aaraki A., Ayadi A., Ihlal M., 1984. Method to study antimicrobial effect of essential oils: application to the antifungal activity of six Moroccan essences. J. Food Protection. 47(10): 748-752.

Benjilali B., Tantaoui-Elaraki A., Ismaili-Alaoui M., Ayadi A., 1986. Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plantes Médicinales et Phytothérapie. 20(2): 155-167.

Benjilali., 1986. Etude de trois plantes aromatiques et médicinales du Maroc : armoises, thym et origan. Chimie de leurs huiles essentielles, chimiotaxonomie et propriétés antimicrobiennes. Doctorat ès- Sciences Agronomiques IAV Hassan II. Rabat- Maroc.

Benjumea, D., Abdala, S., Hernandez-Luis, F., Pe´rez-Paz, P., Martin-Herrera, D. J. 2005. Ethnopharmacol, 100, 205–209.

Benmansour., 1999. Etude de valorisation de l'armoise blanche de l'ouest Algérien et des noyaux de deux variétés de dattes Algériennes. Thèse de doctorat d'état, Faculté des Sciences, université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen- Algérie.

Benouda A., 1982. Les propriétés antiseptiques des huiles essentielles de trois plantesmédicinales marocaines : L'armoise blanche, Le thym et l'eucalyptus. Thèse de doctorat en médecine, faculté de médecine et de pharmacie, Rabat.

Beylier-Maurel M.F; 1976. Activité bactériostatique des matières premières de parfumerie. Rivista Italiana. E.P.P.O.S., 1976, 58: 283-286.

Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou F., Kaloustian J. 2010. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* issued from the district of Biskra (Algeria). *Phytothérapie*, 8, 5, 277-281.

Bigendako-Polygenis, M.J., Lejoly, J.1990. La pharmacopée traditionnelle au Burundi. Pesticides et médicaments en santé animale. Pres. Univ. Namur. Pp. 425-442.

Bitsindou M., 1986. Enquête sur la phytothérapie traditionnelle à Kindamba et Odzala (Congo) et analyse de convergence d'usage des plantes médicinales en Afrique centrale — Mem. Doc (inééd.). Univ. Libre de Bruxelles. 482 pp.

Boelens H., 1985. The essential oil from *Rosmarinus officinalis* L. Perfumer and flavorist, 10, 21, 37.

Bouchird C., Flegel T.W., 1982. Can. J. Microbiol. 28, 1235.

Boulos L ; 1983. Medicinal plants of north Africa, Ed. Reference Publication Inc., Michigan.

Bouraoui N., Lafi B., 2003. Mémoire de fin d'études supérieures section nutrition humaine. Tunis.

Boutekdjiret C., 1990. L'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso d'Algérie. Approche des conditions optimales et son extraction par entraînement à la vapeur d'eau. Contribution à son étude analytique. Thèse de magister en génie chimique, école nationale polytechnique d'Alger.

Boutekedjiret C., Charchari S., Belabbes R., Bessière J.M., 1992. Contribution à l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*. *Asso. Riv. Ital. EPPOS* , 3, 39-42.

Bouyanzer A., Hammouti B., 2004. A study of anticorrosive effects of Artemisia oil on steel. *Pigment and Resin Technol.*, Vol. 33, n°5, pp 63-65.

Branen. A.L.,1975. "Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene." *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 52: 59-63.

Bruneton J., 1993. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 1993, 915

Bruneton J., 1997. Pharmacognosie, Ecole technique de documentation, Ed. Ravoilie.

Bruneton J., 1999. Pharmacognosie- phytochimie- plantes médicinales. 3ème édition. Tec et Doc. Paris

BrunettonJ., 1987. Elément de phytochimie et pharmacognosie, Paris : Lavoisier - Tech. & doc, 1987, 584.Bruxelles.

Buchbauer G., Jäger W., Jirovetz L., ilmberger J., Dietrich H., 1993. Therapeutic properties of essential oils and fragrances. In: *Bioactive Volatile Compounds from Plants*, (R Teramishu, RG Buttery and H Sugisawa, eds). ACS Symposium Series 525 Washington DC: AmericanChemical Society. 159-165.

BurgotG., Pellerin F.,2003. "Microextraction en phase solide (SPME)." *Techniques de l'ingénieur. Analyse et caractérisation, P2, n°P1430*: 1430.1-1430.20.

Burt S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* **94**: 223-253

Chaieb E.L., Bouyanzer A., Hammouti B., Benkaddour M., Berrabah M., 2004.
Corrosion inhibition of steel in Hcl solution by rosemary oil. Transaction of the SATEST, Vol. 39 n° 1 pp 58-62.

Chaintreau A., 2001. "Simultaneous distillation-extraction: from birth to maturity – review." *Flavour and Fragrance Journal*, 16: 136-148.

Chaker El Kalamouni., 2010. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. 226p

Chambon C., 1984. La menthe, étude génétique et recherche de critères de sécrétion.

Charchari S., Dahoun A., Bachi F., Benslimani A., 1996. Antimicrobial activity in vitro of essential oils of *Artemisia herba-alba* Asso and *Artemisia judaica* L. from Algeria. *Rivista Italiana EPPOS* (18): 3-6.

Chaumont J.P., D. Leger., 1989. *Plant Med. Phyto*, 23, 124
chromatography – a powerful and versatile technique." *Analyst* 130: 123-127.

Cisowski, W., 1985. "Flavonoid compounds in *Myrrhis odorata* (L.) Scop." *Herba Polonica*, 31: 13-19.

Conner D.E., Beuchat L.M., 1984. Effect of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *J. Food. Sci.*, 49: 429-434.

Cornet 1981 Cornet F. L'aromatogramme. *Phytomédecine*, **1981**, 1&2, 109-117.
Corrosion inhibition of steel in Hcl solution by rosemary oil. Transaction of the SATEST, Vol. 39 n° 1 pp 58-62.

Couningham A. B., 1993. African medicinal plants setting priorities at the interface between conservation and primary health care. People and plants, working paper n°1, Unesco, Paris, 1-50.

Cowan M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews* 12, 564–582.

Croteau,R., 1987. *Chem. Rev.*, 87, 929.

Da Costa., N.C., Eri, S., 2005. "Identification of Aroma Chemical." *Chemistry and Technology of Flavors and Fragrances*: 12-31.

Da SilvaJ. A., 2004. Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of Biotechnology* December. Vol. 3 (12), 706-720 p.

Dabbah R, Edwards V.M., Woats W.A., 1970. Antimicrobial action of some citrus fruits oils on selected food borne bacteria. *Appl. Microbiology*, 19, 27, 31.

Dahmani-Hamzaoui N., Baaliouamer A., 2005. Chemical composition of the Algerien essential oil of *Artemisia herba-alba* native to Djelfa. *Rivista Italiana EPPOS*, 40, 7-13.

Dahmani-Hamzaoui N., Baaliouamer A., 2010. Chemical composition of Algerian *Artemisia herba-alba* essential oils isolated by microwave and hydrodistillation. *J. Essential Oil Res.*, 22, 6, 514-517.

DallugeJ., Beens, J., Brinkman, U.A.T., 2003. "Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool." *Journal of chromatographyA*, 1000: 69-108.

Darias V., Bravo L., Barqui'n E., Marti'n-Herrera D., Fraile C. J.,1986. *Ethnopharmacol.* (1986), 15, 169–193.

Davis P., 2006. Aromathérapie de A à Z. Le guide le plus complet jamais publié sur le sujet. Ed VIGOT. ISBN: 978-7114-1814-5.

Dayal B., Purohit R.M., 1971. Screening of some indian essential oils for their antifungal activity. The flavor industry, 1971, 2 : 484-485.

De Billerbeck V.G. et al., 2001. Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. Can. J. Microbiol., 47. 9-17

Deferera D.J., B.N. Ziogas., M.G. Polissiou., 2000. “GC-MS Analysis of essential oil from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2576–2581.

Demetzos 1999 Demetzos C, Stahl B., Anastassaki T., Gazouli M, Tzouvelekis L.S., Rallis M., 1999. Chemical analysis and antimicrobial activity of the resin *Ladano*, of its essential oil and of the isolated compounds. *Planta Med.* 65(1): 76-78

Desphande R.S., Tipnis H.P., 1977. Insecticidal activity of *Ocimum basilicum* L. *Pesticides*, 11(1) : 1-12.

Despois J, 1955. La Tunisie orientale. Sahel et basse steppe étude géographique. PUF Paris, 554 p.

Deysson G., 1967. Organisation et classification des plantes vasculaires. Tome 1. Ed

Dhingra V., Rao K.V., Narasu L., 2000. *Life Sci.* (2000), 66, 279–300.

Djebaili S, 1984. Steppe Algérienne phytosociologie et écologie. Alger, office des publications universitaires, 178 p.

Dob T., Ben Abdelkader T., 2006. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* asso grown in Algeria. *J. Essen. Oil Res.*, 18, 685-690.

Dorman H.J.D., Deans S.G., 2000. “Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, **88**, 308-316.

Dorman, H.J.D., Deans., S.G., 2000. “Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, **88**, 308-316.

Douka C., 2002. Activité insecticide des huiles essentielles d’*Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) et de *Xylopiia aethiopica* Dunal (Annonaceae) sur ledéveloppement larvaire de *Tribolium castaneum* Herbst dans la farine du *Sorghum bicolor*. Mémoire de Maîtrise, Université de Ngaoundéré, Cameroun. 70 p.

Dounias E, Rodrigue W et Petit C., 2000. Revue de la littérature ethnobotanique pour l’Afrique Centrale et l’Afrique de l’Ouest, in : Bulletin du Réseau Africain d’Ethnobotanique n° 2 Unesco, 5- 117.

Drugeon H., Legallou F., Caillon J., 1991. Méthodes d’étude de l’activité bactéricide p 113-126. Bactéricidie. Aspects théoriques et thérapeutiques. Edité par : Courvalin P, Drugeon H, Flandrois J.P & Goldstein F. Maloine Paris.

Dugo G., Di Giacomo A., 2002. The genus Citrus. , Taylor & Francis Publishing, London

Duke J.,1992. Handbook of phytochemical constituents of gras herbs and other economic plants. Boca. Raton, FL. CRC Press.

Duke J.A., 1998. USDA – ARS – NGRL (ed), Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland. ‘Phytochemical Database’.

Dunn M., Shellie R., Morrison P., Marriott P., 2004. Rapid sequential heart-cut multidimensional gas chromatographic analysis." *Journal of chromatography A*, 1056: 163-169.

Duraffourd C., Lapraz J.C., 1997. Les règles d'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique. Tunisie (extrait).

El Ajjouri M., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Rahouti M., Amarti F., Aberchane M., 2008. Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'oeuvre. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 12, 4, 345-351.

El-Etre A.Y., 1998. Natural honey as corrosion inhibitor for metals and alloys, I Copper in neutral aqueous solution, *Corros. Sci.* Vol 40 n° 11, pp 1845-50.

El-Etre A.Y., Abdallah M., El-Tantawi., 2005. Corrosion inhibition of some metals using lawsonia extract, *corros. Sci.*, Vol.47 n° 2, pp 385-95.

El-Massry K.F., El-Ghorab A.H., Farouk A., 2002. *Food Chem.* (2002), 79, 331–336.

El-Sayed A.M., Seida A.A., 1990. Comparative study of the major constituents of the essential oils of wild and cultivated Egyptian *Artemisia herba-alba* with those of plants produced abroad. *Bull. Fac. Pharm.*, 28, 57-58.

Emeline Houël., 2011. Etude de substances bioactives issues de la flore amazonienne analyse de préparations phytothérapeutiques à base de quassia amara l. (simaroubaceae) et psidium acutangulum dc. (myrtaceae) utilisées en guyane française pour une indication antipaludique identification et analyse métabolomique d'huiles essentielles à activité antifongique. Thèse de doctorat. 285 p

Essawi T., Srou M., 2000. Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity." *Journal Of Ethnopharmacology*, 70: 343-349.

Evenari M., Schulze ED., Lange OL., Kappen L., Buschbom U., 1980. Long-term effects of drought on wild land cultivated plants in the Negev desert I Maximal rates of net photosynthesis. *Oecologia (Berl)*. 45 (1): 11-18.

Faleiro, M.L., Miguel, M.G., Ladeiro, F., Vanancio, F., Tavares, R., Brito, J.C., Figueirido, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., 2003.Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. *Lett. App. Microbiol.*, **36**, 35-40.

FAO, 1960. La défense contre l'érosion éolienne. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome, 99 p.

Felice S. , N. Francesco., A.A. Nelly., B. Maurezio., H. Werner., 2004. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea falcata* L. *Flav. Fragr. J.*, **20** (3), 291 – 294.

Fellah S., M. Romdhane., M. Abderraba ., 2006. Extraction et étude des huiles essentielles de *la Salvia officinalis*.l cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie *J.soc.alger.chim.*, 2006, **16**(2), 193-202. *Journal de la société algérienne de chimie*.

Fenardji F.,Klur M., Furlon C., Ferrando R.,1972.White *Artemisia* (*Artemisia herba-alba* L). *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, (1974) 27(2):203-6.

Fleming Jones M.E., Smith R.E., 2003. "Volatile Organic Compounds in Foods: A Five Years Study." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 8120-8127.

Florence Mayer., 2012. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite. Thèse de doctorat. Université de Lorraine. 92p.

Floret CH., Pontannier R R., 1982.L'aridité en Tunisie présaharienne, climat, sol, végétation et aménagement. Trav. Docum. ORSTOM (1982) 155: 544.

Franchomme P., 1981. L'aromatologie à visée anti-infectieuse. Phytopharmacie. 1-2,

Franchomme P., Pénéol D., 1990. Clefs pour l'aromathérapie. La molécule aromatique : matière, énergie, information. L'aromathérapie exactement. R.J. Editeur.

Francis Joannès., 2001. Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. Ed Robert Laffont, ISBN 2221092074.

Gale E.F., Cundliffe E ., Reynolds P.E ., Richmond M.H et warring M.J.,1981.Chap4 : Drugs affecting the function of the cytoplasmic membrane in : The Molecular basis of antibiotic action. J. Wiley & Sons (eds). London.

Garnero J., 1985. Photochemistry, 13-17.

Garnero J., 1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Editions techniques. Encyclopédie des Médecines naturelles phytothérapie- aromathérapie (Paris, France). C – 2, 9.

Georgiev E., 1959. Recherche sur les fumures azotées de la menthe. Zennishat Sofia. Tome III.

Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Ismaili M.R., Houtia H., Manfalouti H., Benchakroun K., Abarchane M., Harki L., Boukir A, Chaouch A., Charrouf Z., 2010. Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guercif (Maroc oriental). Phytothérapie, 8,5, 295-301.

Gocho S., 1991. J. Antibact. Antifung. Agents, 19, 585-589.

Gomis J.M., Linares JR.P., Parareda J.S., Sendra J.M., Sedne E., 1979. Sesquiterpène lactone, waxes and volatile compounds from *Artemisia herba-albasubspecies valentina*. Phytochem. 18. 1523-1525.

Gordon M.M., Vanderveer D., Zalkow L., 1981. New germacrolides from *Artemisia herbe – alba*, X-Raucrytal structures of 3, 8 dihydroxy-6 H, 7 H, 11H, germacran-4(14)9(10)-diem-6,12 olid and the corresponding 3 oxo olid. J. Nat. Products, 44(4),232-440.

Granger R., Passet J., Arbousset G., 1973. L'essence de *Rosmarinus officinalis* L. Influence de traitement de matériel végétal. Parfums, cosmétiques, savons de France, 3(3), 133-138.

Greche H., 1999. La tanaise annuelle (*Tanacetum annuum* L.) du Maroc : chimie, ieger chimiotaxonomie, tests biologiques et pouvoir inhibiteur de la corrosion du fer en milieu acide. Doctorat en chimie appliquée. Université Ibn Tofail, faculté des sciences, Kenitra, Maroc.

Guenther E., 1949. The essential oils, Vol. IV, R.E. Krieger Publishing Co, Inc, New York, p.152.

Haddouchi Farah, 2007. Contribution à l'étude des huiles essentielles de *Thymus ontanesii* (Zaâteur) de la région de Mostaganem et de *Laurus nobilis* (Rend) de la région de Tlemcen (Nedroma) – activités antibactériennes et antifongiques en fonction de leur conservation. Mémoire de magister, faculté Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.

Hajji S., Beliveau J., Simon D., 1985. "Comparative study of an essential oil obtained according to two different extraction procedures: steam distillation and hydrodiffusion." *Actes - Colloq. Int. Plant. Aromat. Med. Maroc*: 229-230.

Hanaoka K., Sieffermann J. M., Giampaoli P., 2000. "Effects of the sniffing port air makeup in gas chromatography-olfactometry." *Journal of Agricultural and FoodChemistry*, 48: 2368-2371.

Haouari M., Ferchichi A., 2009. Essential Oil Composition of *Artemisia herba-alba* from Southern Tunisia. *Molecules*, 14, 4, 1585-1594.

Heinrich G., Schultze W., Pfab I., Boettger M., 1983. "The site of essential oil biosynthesis in *Poncirus trifoliata* and *Monarda fistulosa*." *Physiologie Vegetale*, 21: 257-268.

Heywood V.H., Humphries C.J., 1977. Anthemideae – systematic review. In: Heywood.

Hoffman B.R., H. DelasAlas., R.E. Wiederhold., L. William., 2004. Screening of antibacterial and antifungal activities of ten medicinal plants from Ghana” *Pharmaceutical Biology* 42 (1), 13–17.

Huang D., Ou B., Prior, R.L., 2005. "The chemistry behind antioxidant capacity assays." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856.

Hubert Richard, 2008. « Épices et herbes aromatiques »©"Vie", site ressource en Sciences de la Vie.

Hudaiba M., Aburjai T. 2006. Composition of the essential oil from *Artemisia herba-alba* grown in Jordan. *J. Essential Oil Res.*, 18, 3, 301-304.

Hurabielle M., Malsot M., Paris M., 1981. Chemical study of two oils from wormwood: *Artemisia herba-alba* Asso and *Artemisia vulgaris* Linnaeus of chemictaxonomic interest. *Riv. Ital. EPPOS*, 63, 296-299.

Inouye S., 2003. Laboratory evaluation of gaseous essential oils (part 1). *International Journal of Aromatherapy*, 13-2-3: (95-107).

Inouye S., Abe S, 2007. Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse. *Phytothérapie* Numéro 1: 2–4

IPNI., 1979. The International Plant Name Index.

Ismaili-Alaoui M., 1986. Contribution à la connaissance du rôle de thym dans la maturation de Smen: étude de trois techniques de conservation. Journée Nationale de microbiologie, Rabat- Maroc.

Jacob M., Pellecuer J., Tomei R., 1979. Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique. *Rivista Italiana E.P.P.O.S.* 11: 26-30.

Kadri A., Zarai Z., Békir A., Gharsallah N., Damak M., Gdoura R. 2011. Chemical constituents and antioxidant activity of the essential oil from aerial parts of *Artemisia herba-alba* grown in Tunisian semi-arid region. *Afr. J. Biotechnol.*, 10, 15, 2923-2929.

Kalembe D., Kunicka A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10: 813-829

Kaloustian J, 2010. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* issued from the district of Biskra (Algeria). *Phytothérapie*, 8, 5, 277-281.

Karousou R., Koureas D.N., Kokkini S., 2005. Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra*. *Phytochem*, 66, 2668-2673.

Kim J.H., Kim H.-K., Jeon S.B., Son K.-H., Kim E.H., Kang S.K., Sung N.D., Kwon, B.M., 2002. *Tetrahedron Lett* , 43, 6205–6208.

Kim K.S., Lee S., Lee Y.S., Jung S.H., Park Y., Shin K.H., Kim B.-K. J., 2003. *Ethnopharmacol.* (2003), 85, 69–72.

King A.D., Bayne H.G., Jurd L., Case C., 1972. Antimicrobial agents and chemotherapy, 1, 263

Koedam, A., 1982. "The influence of some distillation conditions on essential oil composition." *World Crops: Production, Utilization, Description*, 7: 229-236.

Koedam, A., Scheffer, J.J.C., Svendsen, A.B., 1980. "Comparison of isolation procedures for essential oils. VI. Rosemary and sage." *Riechstoffs, Aromen, Kosmetica*, 30: 271- 276.

Kolb B., 1999. "Headspace sampling with capillary columns." *Journal of chromatography A*, 842: 163-205.

Kordali, S., Kotan R., Mavi A., Cakir A., Ala A., Yildirim A. J., 2005. Agric. Food. Chem. (2005), 53, 9452–9458.

Kouninki H., Haubruge E., Noudjou F.E., Lognay G., Malaisse F., Ngassoum M. B., Goudoum A., Mapongmetsem P.M., Ngamo T.L.S., Hance T., 2005. Potential use of essential oils from Cameroon applied as fumigant or contact insecticides against *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae).57ème symposium in crop protection Gent University.

Kubeczka K.H., Schultze W., Formacek V., Herres W., 1987. New developpements in essential oils analysis by Fourier- Transform spectroscopy, 10th International Congres of Essential Oils, Fragrances and Flavours, Washington, 16-20 Nov., Proceedings, Ed. Elsevier Science, 931-950.

Kurita N., Miyaji M., Kurane R., Takahara Y., Ichimura K., 1979. Agric. Boil. Chem.43, 2365.

Kurkin V.A., 2003.*Chem. Nat. Compd.*39,123

Kurt Torssell B.G., 1983. Natural Products Chemistry. *John Willy & Sons Limited*. 401 p.

Larivée L., 2002. Les huiles essentielles : un arsenal de guerre contre les microbes. Vol. 21, n° 4. Texte publié dans 4 temps.

Lattaoui N., Tantaoui-Elaraki A., 1995. J. Essent. Oil, Res 6, 165-171.

Lattaoui N.et Tantaoui-Elaraki A., 1994.Riv. Ita. EPPOS. 13, 13.

Lawrence B.M., 1971. Progress in essential oils. Perfumer and flavorits, 2(4), 34.

Lawrence B.M., 1980. The existence of intraspecific differences in specific general in the labiateae family. Paper presented at VII international congress of essential oils (Cannes), p: 118-123.

Le Floc'h E., 1983. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Ed. Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique.

Le Floc'he., 1989. Biologie et écologie des principaux taxons dans “ Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisienne: I. Eléments de botanique et de phyto-écologie”. p.193.

Lee K.H., Huang E.S., Pagana J.S., Geissman T.A., 1971. Cytotoxicity of sesquiterpenes lactones. *Cancer.Reasearch*. 31: 1649-1654.

Lehotay S.J., Hajslova J., 2002. "Application of gas chromatography in food analysis."*Trends in Analytical Chemistry*, 21: 686-697.
Limoges. 2- (73-227).

Linderschmidt R., Trylka A., Goad M., Witschi, H., 1986. "The effects of dietary butylated hydroxytoluene on liver and colon tumor development in mice." *Toxicology*, 38: 151- 160.

Lopes-Lutz Daíse a., Daniela S., Alviano b., Celuta S., Alviano b., Paul P., Kolodziejczyk., 2008. *Phytochemistry*, 69 1732–1738 Brazil: “Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils”.

Lubbers S., Decourcelle N., Vallet N., Guichard E., 2004. "Flavor Release and Rheology Behavior of Strawberry Fat-free Stirred Yogurt during Storage." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 3077-3082.

Lüttge U., Kluge M., Bauer G., 1992. *Botanique: traité fondamental* (traduction française). Ed. Tec. & doc. Lavoisier, Paris. 205-218 p.

Mailhebiau P., 1994. *La nouvelle aromathérapie : biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs*, Lausanne, (635).

Mallea M., Soler M., Anfosso F., Charpin J., 1979. *Path. Biol.* 27, 597.

Malo N., 1991. 10ième Journées Internationales , Digne-Les-Bains 5-6-7 Sept ; p. 28.

Mangena T., N.Y.O. Muyima., 1999. *Lett. Appli. Microbiol.* 28, 291.

Mantis N., Prevost M.C., Sansonetti P., 1979. Analysis of epithelial cell stress response during infection by *Shigella flexneri*. *Infect Immun*; 64: 2474-82.

Marianne Piochon., 2008. *Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: Composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse*. Université du Québec. Thèse de maîtrise. 200p.

Marriott P.J., Dunn M., Shellie R., Morrison P., 2003. "Targeted Multidimensional Gas Chromatography Using Microswitching and Cryogenic Modulation." *Analytical chemistry*, 20: 5532-5538.

Martinez Nadal N.G., Montalvo A.E., Seda M., 1973. Antimicrobial properties of bay and other phenolic essential oils. *Cosmetics and perfumery*.88: 37-38.

Matich A.J., Rowan D.D., Banks, N.H., 1999. "Solid phase microextraction for quantitative headspace sampling of apple volatiles." *Analytical chemistry*, 68: 4114- 4118.

Mau J.L., C.P. Chen., P.C. Hsieh., 2001.Antimicrobial effect of extracts from Chinese chive, cinnamon and *Corni fructus*,’ *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**,183–188.

Mehdioui, R, Kahouadji, A., 2007. Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d’Amsittène: cas de la Commune d’Imi n’Tlit (Provincé’Essaouira). Bulletin de l’Institut Scientifique, Rabat, section Sciences dela Vie 29: 11-20.

Mellea M., Soler M., Anfooso F., Charpin J., 1979. Antibacterial action of some Indian indigenous aromatic plants. *Flavour industry*, 2: 111-113.
Mémoire de DEA, université Claude Bernard Lyon I.

Messai Laid., 2011. Etude phytochimique d’une plante médicinale de l’est Algérien (*Artemisia herba alba*). Université Mentouri Constantine. 96p

Mighri H., Akrouit A., El-jeni H., Zaidi S., Tomi F., Casanova J., Neffati M., 2010. Composition and intraspecific chemical variability of the essential oil from *Artemisia herba-alba* growing wild in a Tunisian arid zone. *Chem. & Biodiv*, 7, 11, 2709-2717. A. Zaim *et al.*
– Effets des huiles essentielles de l’Armoise sur les criquets

Modzelewska, A., Sur, S., Kumar, S.K., Khan, S.R., 2005.Sesquiterpenes: *Natural products that decrease cancer growth*. *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents* 5, 477-499.

Moretti M.D., A.T. Peana., A. Franceschini., C. Carta., 1998. *In vivo* activity of *Salvia officinalis* oil against *Botrytis cinerea*, *Journal of Essential Oil Research*, **10**, 157–160.

Morin P., Gunther C., Peyron L., Richard H., 1985. Bull. Soc. Chim., France, n° 05, 921.

Mouchem FZ., Hellal B., Ayad Nadira et Ayache Abbassia., 2015. ‘‘The antibacterial effect of the sagebrush essential oil (*Artemisia herba-alba* Asso.) of Western Algeria’’. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* , Vol 7. Issue 5.

Mouchem FZ., 2009. ‘‘Etude phytochimique de l’armoise blanche du sud de l’Algérie occidentale et effets antibiotiques de ses huiles essentielles’’. Thèse de Magister. Université de Sidi Bel’Abbes. 90 pages.

Muller-Riebau F., B. Berger., O. Yegen., 1995. ‘‘Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oil of selected aromatic plants growing wild in Turkey’’, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43**, 2262–2266.

Mundina M., Vila R., Tomi F., Tomas X., Ciccio J.F., Adzet T., Casanova S., Caniguer S., 2001. Composition and Chemical polymorphism of the essential oils from *Pipper lanceaefolium*. *Biochem. Syst. Ecol.* **2001**, 29(7) : 739-748.

N. Bouzouita., F. Kachouri., M. Hamdi., M. M. Chaabouni., R. Ben Aissa., S. Zgoulli., P. Thonart., A. Carlier., M. Marlier., G.C. Lognay., 2005. *J. Essent. Oil Res.*, **17**, 584.

Nabli M. A., 1989. Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Ed. MAB. (Faculté des sciences de Tunis) ; 186- 188p.

Narashima Rao B.G.V., Subba Rao., 1972. The efficacy of some essential oils on pathogenic fungi. II. The flavor industry. **1972**, 3 : 368-370.

Naves Y.R., 1964. Industrie chimique belge, 29, (11), 1165.

Nedjraoui D., 1981. Evolutions des éléments biogènes et valeurs nutritives dans les principaux faciès de végétation des hautes plaines steppiques de la wilaya de Saïda. Thèse 3^{ème} cycle, USTHB, Alger, 156 p.

Ngamo T.L.S., Ngassoum M.B., Jirovertz L., Ousman A., Nukenine E., Moukala O.E., 2001. Protection of stored Maize against *Sitophilus zeamais* (Motsch.) by use of essential oils of spices from Cameroon. *Medical faculty Landbouww* University of Gent, **66** (2a) : 473-478.

Ngassoum M.B., Tatsadjieu L.N., Ngang J.J.E., Etoa F.X., 2003. Antibacterial and antifungal activity of *Xylopia aethiopica*, *Monodora myristica*, *Zanthoxylum xanthoxyloides* and *Zanthoxylum lepreurii* from Cameroon. *Fitoterapia*, **74** (5) : 469-472.

Nguemtchouin Mbouga Marie Goletti., 2012. Formulation d'insecticides en poudre par adsorption des huiles essentielles de *xylopia aethiopica* et d'*ocimum gratissimum* sur des argiles camerounaises modifiées. Thèse de doctorat. Université de Montpellier. 269p

Obeng-Ofori D., Bekele A.J., Hassanali A., 1996. Evaluation of *Ocimum suave* (Willd) as a source of repellents, toxicants and protectants in storage against three stored product insects. *International Journal of Pest Management*, **42** (2) : 139-142.

Obeng-Ofori D., Reichmuth C.H., 1997. Bioactivity of eugenol, a major component of essential oil of *Ocimum suave* (Wild.) against four species of stored-product Coleoptera. *International Journal of Pest Management*; **43** (1) : 89-94.

Ouraïni D., Agoumi A., Ismaïli-Alaoui M., Alaoui K., Cherrah Y., Amrani M., Belabbas M A., 2005. Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes, *J Phytothérapie* Numéro 4: 147-157

Ourcival J. M., 1992. Réponse de deux chamaephytes de la Tunisie présaharienne à différentes contraintes et perturbations. Thèse Doc. USTL, Montpellier, (1992) :167.

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M., 2007. “Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* *Thyphimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*”. Food Control, **18**, 414-420.

Ouyahya A., Nègre R., Viano J., Lozano Y.F., Gaydou E.M., 1990. Essential oils from Moroccan *Artemisia negrei*, *A. mesatlantica* and *A. herba-alba*. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, **23**, 528-530.

Ozenda P., 1985. La flore du Sahara. Tome II. Ed CNRS, pp 44.

Padrini F., Lucheroni M.T., 1996. Le grand livre des huiles essentielles. Ed. De Vecchi.

Padua L.S., N. Bunyapraphatsara, R.H.M.J., 1999.Lemmens, *Plant Resources of South-East Asia*, **12**.

Paolini J., El Ouariachi M., Bouyanzer A.H., Hammouti B., Desjobert J.M., Costa J., Muselli A., 2010. Chemical variability of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from East Morocco. *Chem. and Materials Sci.*, **64**, 5, 550-556.

Paris M & Hurabielle., 1981. Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Masson. Paris. France.

Park Y., Kim K. S., Lee S., Lee Y.S., Jung S.H., Shin K.H., Kim B.-K. J., 2003. *Ethnopharmacol.* (2003), **85**, 69–72.

Patocka J., Plucar B.,2003. *Journal of Applied Biomedicine*1: 199–205, ISSN 1214-0287.

Pattnaik S., Subramanyam V.R., Bapaji M., Kole C.R., 1997. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios.*, 89 (358): 39-46

Pauli A, 2001.Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int. J. Aromather.* 11, 126- 133.

Pawliszyn J.P., 2003. "Sample Preparation: Quo Vadis." *Analytical chemistry*, 75: 2543-2558.

Pellecuer J., Allegrini J., De Buochberg S.M., 1976. Huiles essentielles bactéricides et fongicides. *Revue de l'institut Pasteur de Lyon.* 9 : 135-159.

Pellecuer J., Jacob M., Simeon de Buechberg M. & Allegrini J., 1980. Therapeuticvalue of the cultivated mountain savory (*Satureia Montana L.*). *Acta Hortic.*, 96, 35-39.

Pereira R. C., P. Da Gama B. A., 2003. Teixeira V. L., Yoneshigue-valentin Y. Y., *Braz. J. Bio.* 63, (4), 667-672.

Pibiri M-C., 2006. assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse n° 3311, présentée à la faculté environnement naturel, architectural et construit institut des infrastructures, des ressources et de l'environnement section d'architecture pour l'obtention du grade de docteur es sciences. Ecole polytechnique fédérale de lausanne.

Pillonel L., Bosset J.O., Tabacchi R., 2002. "Rapid preconcentration and enrichment techniques for the analysis of food volatile." *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 35: 1-14.

Pollien P., Ott A., Fay, L.B., Maignial L., Chaintreau A., 1998. "Simultaneous distillation-extraction: preparative recovery of volatiles under mild conditions in batch or continuous operations." *Flavour and fragrance Journal*, 13: 413-423.

Pottier G., 1981. *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes dicotylédones–gamopétales, (1981) p 1012.

Pourrat., 1974. Propriétés écophysiologiques associées à l’adaptation d’*Artemisia herba-alba* plante d’intérêt pastoral au milieu désertique. Thèse de 3ème cycle. Université de Paris.

Prates H.T., Santos J.P., Waquil J.M., Fabris J.D., Oliverta A.B., Foster J.E., 1998. Insecticidal Activity of Monoterpen against *Rhyzopertha dominica*(F) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of stored products Research*, **34** (4) : 243-249.

Quezel P., Santa S., 1963. Nouvelle flore d’Algérie et des régions désertiques méditerranéennes. Ed. Centre national de la recherche scientifique. Paris. France. Tome II : 19-23.

Quyrou A., 2003 . Mise au point d’une base de données sur les plantes médicinales. Exemple d’utilisation pratique de cette base. Thèse de Doct. Univ. Ibn Tofail. Fac. Sci. Kénitra, Maroc. 110 p.

Rakotonirainy M.S., B. Lavedrine., 2005. “Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas”, *International Biodeterioration and Biodegradation* **55**, 141–147.

Regnault R.C., Philogène B.J.R., Vincent C., 2002. Produits phytosanitaires insecticides d’origine végétale : promesses d’hier et d’aujourd’hui. In Regnault- Roger C., Philogène B. J. R., Vincent C. *Biopesticides d’origine végétale*. Lavoisier, Tec & Doc, Paris, pp 1-17.

Remmal A., Tantaoui Elaraki A., Bouchikhi T., Ettayebi M., 1993b. Inhibition of antibacterial activity of essential oils by Tween 80 and Ethanol in liquid medium. *J. pharm. Belg.* **48**(5): 352-356.

Remmal A., Tantaoui Elaraki A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M., 1993a. Improved method for the determinatin of antimicrobial activity of essential oils in Agarmedium. J. Essent. Oil. Res. 5 : 179-184.

Rhayour Khadija., 2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huilesessentiels sur Esherichia coli, Bacillus subtilis et surMycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum. Université Sidi Mohamed Ben AbdellahFaculté des Sciences Dhar Mehraz-Fès- .Thèse de doctorat. 158p.

Ribnicky D.M., Poulev A., Watford M., Cefalu W.T., Raskin I. phymed., 2005.

Richard H., 1992. Epices et herbes aromatiques. Tec et doc. Lavoisier, paris. E.N.S.I.AMassy Cedex.

Robert G., 2000. Les Sens du Parfum.Osman Eroylls Multimedia. Paris. 224 p.

Robert K.M., 1993. Waterman, G.Peter, Longman Scientific and Technical, U.K.

Russel A.D., Path F.R.C., 1983. In Lea and Febiger (Eds), Philadelphia, 717-750.

S.E.D.E.S

Saleh N., El-Nougoumy S., Abd-Allah M., Abou-Zaid M., Dellmonica G. ,Chopin J., 1985.Phytochemistry 24(01): 201 203.

Salido S., Altarejos J., Nogueras M., Sánchez A., 2001. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso ssp. *valentina* (Lam.) Marcl. J. Essential Oil Res., 13, 4, 221-224.

Salido S., Valenzuela L.R., Altarejos J., Nogueras M., Sanchez A., Cano E. 2004. Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochem. Systematics and Ecol.*, 32, 265-277.

Salton M.R.J., Tomasz A.,V., 1974. Mode of action of antibiotics on microbial walls and membranes. *Ann. NY. Sci.*, 235 : 1-31.

Santorini M., 1983. L'armoise au maroc. *Parfums, cosmétiques et arômes*, n°51, pp. 77- 79.

Sauvage C., 1974. L'état actuel de nos connaissances sur la flore du Maroc. Collogue du CNRS n° 235, la flore du bassin méditerranéen, Paris.

Schmitt B., SchulzH., Storsberg J., Keusgen M., 2005. "Chemical Characterization of *Allium ursinum* L. Depending on Harvesting Time." *Journal of Agricultural and FoodChemistry*, 53: 7288-7294.

Schomburg G., 1995. "Two-dimensional gas chromatography: principles, instrumentation, methods." *Journal of chromatography A*, 703: 309-325.

Segal R.,Breuer A.,1980. Feuerstein I., *Phytochemistry* (1980) 19(12): 2761 2762.

Segal R., Cohen D., Soroloff S., Zeitschek D.V., 1973. A new flavone from *Artemisia herba-alba*. *Lioydia*, 36(11), 103-105.

Segal R., Eden L., Danin A., Kaiser M., Duddeck H., 1985. *Phytochemistry* 24,1381-1382.

Sékou Moussa K., Sidibe L., Figueredo G. & Chalchat J.C., 2001. Chemical composition of the essential oil of *Xylopi aethiopica* (Dunal) A. Ch. From Mali. *Journal of Essential Oil Research*, 15 (4) : 267-269.

Sékou Moussa K., Vincent C., Schmit J-P., Ramaswamy S., Belanger A., 2000. Effect of various essential oils on *Callobruchus maculatus*. *Journal of ProductsResearch*, **36** : 355-364.

Sell C.S., 2006.The Chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer.2nd edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. 329 p.

Seltzer P, 1946. Le climat de l'Algérie. Alger, Algérie, Institut de météorologie et physique du globe, 219 p.

Setzer, W.N., Vogler B., Schmidt J.M., Leahy J.G., Rives R., 2004. Fitoterapia. 75, 192–200.

Shaaya E., Kostjukovski M., Eilberg J., Sukprakarn C., 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Product Research*, **33** (1) : 7-15.

Shen XL., Nielsen M., Witt MR., Sterner O., Bergendorff O., Khayyal M., Zhongguo., 1994.Yao Li Xue Bao. Sep, 15(5):385-8.

Siddiqui Y.M., Ettayebi M., Haddad A.M., Al-Ahdal M.N., 1996. Effect of essential oils on the enveloped viruses : antiviral activity of oregano and clove oils on *herpes simplex* virus type 1 and Newcastle disease virus. *Med. Sci.Res.* 24 : 185-186.

Siegenthaler W., LuthyR., 1978. Current chemotherapy. Proceeding 10th international congress of chemotherapy.II. Washington DC, Am. Soc. Microbiol.

Simeon De bouchberg M., Allegrini A., Bessière C., Attisso M., Passet J., Granger R., 1976. Propriétés microbiologiques des huiles essentielles de chimiotypes de *Thymus vulgaris* *Linnaeus*. *Rivista Italiana*., E.P.P.O.S., 58 : 527-536.

Singh A.K., Dirshit A., Dixit S.N., 1983. Fungitoxic properties of essential oil of *Mentha arvensis*-var. *pepirascens*. *Perfumer and flavorist*, 8, 55-58.

Sivropoulou A., E. Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras., M. Arsenakis, J., 1996. *Agric. Food Chem.* 44, 1202.

Sivropoulou S., Kokkini., T. Lanaras., 1995. Antimicrobial activity of mint essential oil”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 2384–2388.

Sivropoulou C., Nicolaou E., Papanikolaou S., Dokkini T., Lanaras., M Arsenakis., 1997. Antimicrobial, cytotoxic and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (1997), 3197–3201.

Sridhar S.R, R.V. Rajagopal., R. Rajavel., S. Masiilamani., S. Narasimhan., 2003. “Antifungal activity of some essential oils”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 512, 7596–7599.

Tabanca .N., N. Kirimer., B. Demirci., F. Demirci., K.H.C., 2001.Baser, *J. Agric. Food Chem* 49, 4300

Tabuti, J.R.S., Lye K.A. et Dhillion, S.S., 2003 .Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *J. Ethnopharmacology* 88: 19-44.

Tae-Hoon K., Hideyuki L., Tsutomu H., Shoko T., Seddik K., Takashi Y., 2004. Chemical constituents of *Artemisia herba-alba* Asso. *Natural Medicines*. Tokyo, Japan, 58(4), 165.

Tan, R.X., Zheng, W.F., Tang, H.Q. *Planta Med.* (1998), 64, 295–302.

Tantaoui-Elaraki A., Lattaoui N., Errifi A., Benjilali B., 1993. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus broussonetti*, *T. zygis* and *T.satureioides*. *J. Essent. Oil Res.* 5, 45-53.

Tharib S.M., Gnan S.O., Veitch G.B.A., 1983. Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris*. J. Food. Prot. **1983**, 46 : 681-685.

Thoroski J., Blank G., Biliaderis C.G., 1989. Eugenol induced inhibition of extracellular enzyme production by *Bacillus subtilis*. J. Food Prot. 52 : 399-403.

TrombettaD., 2005. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrob. Agents Chemother., 49(6), 2474-2478.

Ultée A., Kets E.P.W., Smid E.J., 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. J. Appl. Microbiol., 65(10) : 4606-4610.

Valnet J., Duraffourd C.H., Duraffourd P., Cilapraz J., 1978. L'aromatogramme : nouveaux résultats et essais d'interprétation sur 268 cas cliniques. Plant Med Phytother.12 : 43-52.

Valnet J., 2005. L'aromathérapie. Ed. Maloine S.A.ISBN : 2-253-03564-5.

Valnet J., Duraffourd C.H., Duraffourd P., Cilapraz J., 1978.L'aromatogramme : nouveaux résultats et essais d'interprétation sur 268 cas cliniques. Plant Med Phytother, 12 : 43-52.

Vanier P., 1994.Les huiles essentielles et la thérapie par les huiles essentielles.Guide Ressources. 9, 69-73.

Vernin G., Merad O., Vernin G.M.F., Zamkotsian R.M., Párkányi C., 1995. GC-MS analysis of *Artemisia herba alba*Asso essential oils from Algeria. *Developments in Food Science*, 37, 147-205.

Viaud H., 1993. Les huiles essentielles et leur distillation. Thérapeutiques naturelles-GNOMA.

Viollon C., Chaumont J.P., 1994. Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*. 128 (3), 151-153.

Viollon C., Chaumont J.P., Leger D., 1993.*Plant Méd Phytothér*, 26, 1

Wallach O.,1907. "Sabinene and its relationship to the terpinenes." *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 40: 585-595.

Wan, J., Wilcock, A., Coventry, M.J., 1998. "The effect of essential oils of basil of the growth *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*.", *J. Appl. Microbiol.*, **84**: 152-158.

Wang K., Hiruki C., Chen M.H., 1998. "Identification of a phytoplasma causing yellows of *Monarda*." *Plant Pathology*, 47: 103-106.

Wang Z., Hennion B., Urruty L., Montury, M., 2000. "Solid phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography : a complementary technique to solid-phase microextraction gas chromatography for the analysis of pesticide residues in strawberries." *Food additives and contaminants*, 17: 915-923.

Ward J.L., Harris C., Lewis J., Beale M.H., 2003. Assessment of ¹H NMR spectroscopy and multivariate analysis as a technique for metabolite fingerprinting of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry* 62, 949-957.

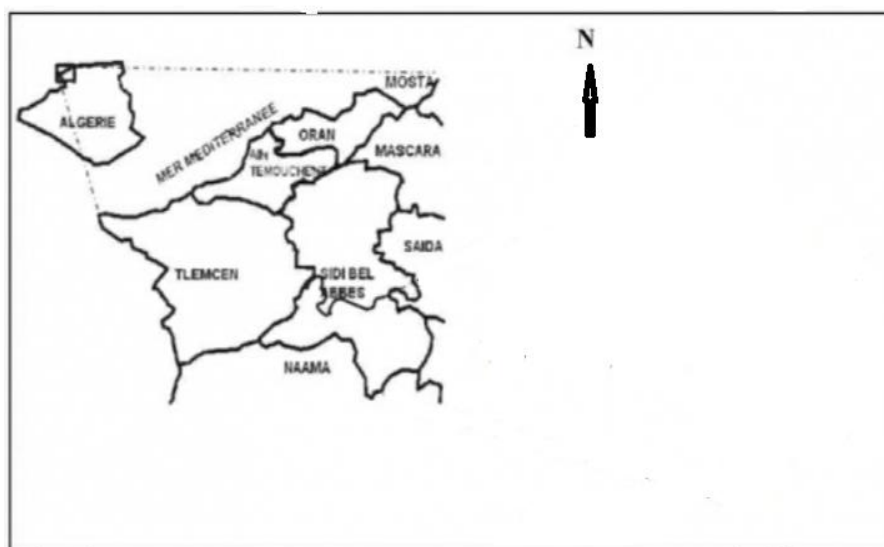
Wurtz ch-A ., 1874. Dictionnaire de chimie pure et appliquée. Paris, Hachette, t.I, p. 1269-1270.

Yashphe J., Segal R., Breuer A., Erdreich - Naftali G., 1979. Antibacterial activity of *Artemisia herba-alba* Asso. *J. pharm. Sci.* 68 (7). 924-925.

Zambonelli A.Z. D., Aurelio A., Severi E., Benvenuti L., Maggi A., Bianchi J.,2004.
Essent. Oil Res., 16, 69.

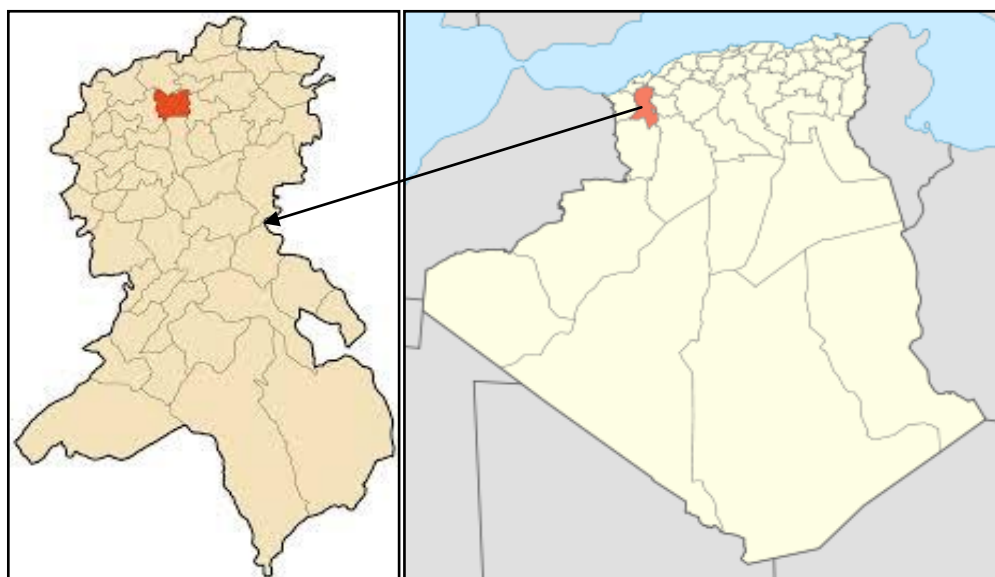
Annexe n° 01:

Carte de localisation de la steppe sud-oranaise



Annexe n° 02:

Carte de localisation de la zone l'étude ethnobotanique



Annexe n° 04:

Carte de localisation des sites d'échantillonnage de l'armoise blanche



Annexe n° 05:

Caractères physico-chimiques

1- Densité relative à 20°C

La densité relative à 20°C d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume

de cette huile à 20°C sur son volume à la même température.

La densité relative est donnée par la formule suivante :

$$D_{20}^{20} = m/v$$

m : masse d'un volume d'échantillon bien déterminer en g.

v: **volume** de l'échantillon en Cm³ ou ml (**AFNOR, 1994**).

2- Miscibilité à l'éthanol.

Une huile essentielle est dite miscible dans un volume d'éthanol à 96% à la température de 20°C, lorsque le mélange d'un volume des huiles essentielles avec volume d'éthanol à 96% donne une solution homogène (une seule phase) (**AFNOR ; 1986**).

Matériel utilisé :

-Eprouvettes de 1ml.

-Burette.

-Pipette.

Mode opératoire.

-On introduit dans une éprouvette 1ml d'HE mesurer à l'aide d'une pipette.

-On ajoute à l'aide d'une burette de l'éthanol à 96% jusqu'à miscibilité complète, en agitant énergiquement après chaque addition.

-lorsque le mélange est complètement limpide, on note le volume d'éthanol utilisé.

3- L'indice d'acide :

L'indice d'acide IA est le nombre en milligramme d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire

à la neutralisation des acides libres dans un (01) gramme d'huile essentielle (**AFNOR ; 1982**).

Mode opératoire :

On pèse 0.5g d'HE qu'on introduit dans un bécher, on ajoute 3.5ml d'éthanol à 96% et 5 gouttes

de phénophtaléine à 0.2%, en suite on neutralise ce mélange à l'aide d'une solution de KOH (0.1mol/L).

Le calcul de l'indice d'acide IA est donné par la formule :

$$I_A = 5.61 \frac{v}{m}$$

5.61g/l : correspondant à 0.1 mol/L de KOH.

v : volume en ml de la solution de KOH (volume de neutralisation).

m: la masse en g de la prise d'essai (**AFNOR ; 1982**).

4 - Conductivité

$K = 0,452 \text{ cm}^{-1}$

$c = 13.10^{-6} \text{ s/cm}$

$C = c / K$

5- Résistance

$R = 1 / C$

6- Le point de congélation AFNOR 75-111, 2000

Le point de congélation d'une huile essentielle est la température constante ou maximale observée pendant la phase de la libération de la chaleur de solidification, lorsque cette huile essentielle à l'état liquide est refroidie.

L'huile essentielle est mise dans des tubes à essai à l'intérieur d'un congélateur, accompagnés d'un thermomètre, d'où l'observation des variations de température accompagnant la solidification de l'huile qui est refroidie lentement et progressivement (**AFNOR, 2000**)

Résumé

Dans le but de valoriser l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso) on a réalisé une étude ethnobotanique dans le cercle de la ville de Sidi Bel Abbès. Elle a été faite dans le but de réunir toutes les informations concernant les usages thérapeutiques pratiqués par la population locale et cela à l'aide de fiches questionnaires. Les résultats obtenus ont montré que le feuillage de l'armoise blanche constitue la partie la plus utilisée et la majorité des remèdes sont préparées sous forme d'infusion. Sur le plan des maladies traitées, celles du système respiratoire occupent la première place.

Une étude comparative des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, de trois localités à savoir Ras El Ma, El Aricha et Mecheria, s'est effectuée par la comparaison des caractères physico-chimiques de ces huiles essentielles.

Des activités antimicrobiennes variables se sont révélées positives sur six souches microbiennes dont quatre bactéries et deux champignons.

Mots clés : activités antimicrobiennes, armoise blanche, étude ethnobotanique, huiles essentielles, steppe.

Summary

In order to develop the sagebrush (*Artemisia herba-alba* Asso) an ethnobotanical study was conducted in the circle of the town of Sidi Bel Abbes. It was made in order to gather all the information about the therapeutic uses practiced by the local population in the study area using question cards. The results showed that sagebrush foliage is the most used part and the majority of remedies are prepared as an infusion. In terms of the treated disease of the respiratory system rank first.

A comparative study of the essential oils of *Artemisia herba - alba* of three localities Ras El Ma, Aricha and Mecheria was done by comparing the physicochemical characteristics of these essential oils.

Variable antimicrobial activities were found in six microbial strains including four bacteria and two fungi.

Keywords: antimicrobial activities, sagebrush, ethnobotanical study, essential oils, steppe.

ملخص

من أجل تطوير الشاي الأبيض (*Artemisia herba-alba* Asso) تم إجراء دراسة في مدينة سيدي بلعباس من أجل جمع كل المعلومات حول الاستخدامات العلاجية التي يمارسها السكان المحليين في منطقة الدراسة باستخدام بطاقات السؤال. وأظهرت النتائج أن أوراق الشاي هي الجزء الأكثر استخداما و تحتل أمراض الجهاز التنفسي المرتبة الأولى .

تمت دراسة الزيوت الأساسية للشاي لثلاثة مناطق : رأس الماء، العريشة و مشرية عن طريق مقارنة الخواص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية .

تمت دراسة فاعلية الزيوت الأساسية للشاي على أربعة بكتيريا واثنين من الفطريات.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للبكتيريا، الشاي الأبيض، الزيوت الأساسية، السهوب.